

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA



**Evaluación del DNA transrenal como
biomarcador para la detección
oportuna del cáncer de ovario y
endometrio**

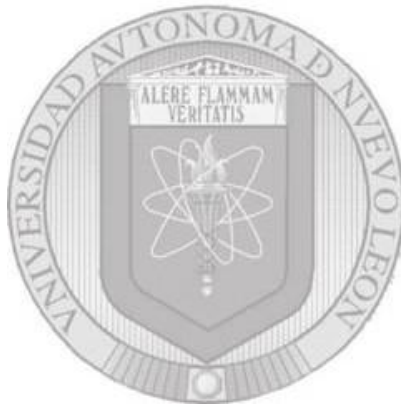
POR

DRA. CINTHYA VIRIDIANA COLEGIO TORRES

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE ESPECIALIDAD DE GINECOLOGIA Y
OBSTETRICIA**

FEBRERO 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA



**Evaluación del DNA transrenal como
biomarcador para la detección oportuna del
cáncer de ovario y endometrio**

POR

DRA. CINTHYA VIRIDIANA COLEGIO TORRES

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE ESPECIALIDAD DE GINECOLOGIA Y
OBSTETRICIA**

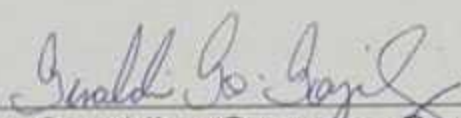
FEBRERO 2021

Evaluación del DNA transrenal como biomarcador para la detección oportuna del cáncer de ovario y endometrio

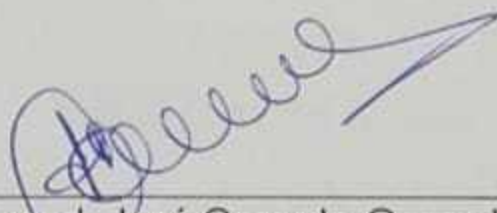
Aprobación de la tesis:



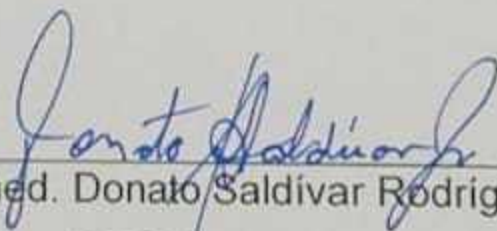
Dr. med. Óscar Vidal Gutiérrez
Asesor de tesis
Jefe del Servicio de Oncología



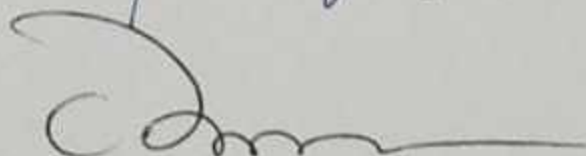
Dra. C. Geraldina Guerrero González
Coordinadora de Investigación
Departamento de Ginecología y Obstetricia



Dr. med. José Gerardo Garza Leal
Jefe del Servicio de Ginecología



Dr. med. Donato Saldivar Rodríguez



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA

Porque recta es la palabra de Jehová, y toda su obra es hecha con fidelidad en mi vida.

Salmos 33:4

A Dios por su fidelidad cada día durante estos años, sé que tengo todo si lo tengo a Él.

A mi mamá, Bertha por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ella he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

Me gustaría agradecer en estas líneas, a mi tutor Dr. Óscar Vidal Gutiérrez, por haberme orientado en todo momento que necesité sus consejos y a la Dra. Irma Vigil por su apoyo incondicional durante el proceso de investigación y redacción de este trabajo.

A mis compañeros Ale, Abel, Cristina, Debanhi, Deniz, Eleazar, Jaime y Mericia, por hacer mejores mis días de residencia y a mis maestros porque de cada uno aprendí algo invaluable.

Los llevo en mi corazón.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	PÁGINA
Dedicatoria	4
Tabla de Contenido	5
Lista de Tablas	6
Lista de Figuras	7
Lista de Abreviaturas	8
Resumen	9
1. Introducción	11
1.1 Cánceres ginecológicos	11
1.1.1 El cáncer de endometrio y sus características clínico-patológicas	12
1.1.2 El cáncer de ovario y sus características clínico-patológicas	12
1.2 Epidemiología	14
1.3 Diagnóstico y tratamiento	14
1.4 Biopsia líquida	17
1.4.1 Biopsia líquida modalidad orina	18
2. Justificación	21
3. Hipótesis	22
4. Objetivos	23
4.1 Objetivo general	23
4.2 Objetivos específicos	24
5. Materiales y métodos	25
5.1 Métodos	27
5.1.1 Recolección de información clínica de los sujetos de estudio	27
5.1.2 Encuesta de percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos	27
5.1.3 Aislamiento de Tr-DNA de orina	28
5.1.4 Detección de los niveles del Tr-DNA de orina	30
5.1.5 Caracterización del Tr-DNA de orina	33
5.1.6 Generación del biobanco y archivo electrónico	33
5.1.7 Análisis de datos	34
5.1.8 Análisis estadístico	34
6. Resultados	35
6.1 Características de la población de estudio	35
6.2 Descripción clínica de los grupos de pacientes	37
6.3 Aislamiento y cuantificación de los niveles del Tr-DNA	38
6.4 Caracterización del Tr-DNA	40
6.5 Aplicación de encuesta de percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos	41
7. Discusión	48
8. Conclusiones	51
9. Perspectivas	52
10 Bibliografía	53
11. Anexos	58
Anexo 1: Encuesta de percepción del dolor	58
Anexo 2: Carta de aceptación de comité de ética	59
12. Resumen autobiográfico	61

Lista de Tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Epidemiología de neoplasias ginecológicas más frecuentes en la mujer	13
Tabla 2. Grupos de estudio y sus características clínicas	33

Lista de Figuras

Figura	Página
Figura 1. Tipos de cáncer ginecológico	10
Figura 2. Clasificación histopatológica de los CO y CE	13
Figura 3. Estimación estadística del número de pacientes por grupo	34
Figura 4. Características de la cohorte independiente de la encuesta de percepción del dolor	37
Figura 5. Evaluación de los niveles del Tr-DNA en los diferentes grupos del estudio.	40
Figura 6. Microelectroforesis capilar representativa de la caracterización del Tr-DNA de orina de pacientes con CE y CO	41
Figura 7. Percepción del USTV	44
Figura 8. Percepción del Papanicolaou	45
Figura 9. Percepción de la Biopsia Endometrial	46
Figura 10. Percepción de la Histeroscopia	47
Figura 11. Percepción de la Colposcopia	48
Figura 12. Percepción del procedimiento ginecológico menos doloroso y del más doloroso.	49

Lista de Abreviaturas

%	Porcentaje
°C	Grados centígrados
cc	Centímetros cúbicos
E.U.A.	Estados Unidos de América
<i>et al</i>	y colaboradores
g	gravedades
BL	Biopsia Líquida
CO	Cáncer de Ovario
CE	Cáncer de Endometrio
CM	Cáncer de Mama
CaCU	Cáncer Cervicouterino
CU	Cáncer de Utero
USTV	Ultrasonido transvaginal
BQ	Biopsia quirúrgica
HE4	Proteína Epididímic Humana
CfDNA	Cell free DNA (del inglés, ácidos nucleicos circulantes)
CtDNA	Cell free DNA de tumor
Tr-DNA	Transrenal DNA (del inglés, ADN transrenal)
DNA	deoxyribonucleic acid (del inglés, ácido desoxiribonucleico o ADN)
CPCNP	Cáncer de pulmón de células no pequeñas
CPCP	Cáncer de pulmón de células pequeñas
dsDNA	Double strand DNA (del inglés, ADN de doble cadena)
CNV	Copy Number Variant (del inglés, variantes en el número de copias)
SNV	Single Nucleotide Variant (del inglés, variante de un solo nucleótido)
PBO	Patologías benignas del ovario
PBE	Patologías benignas del endometrio
g	Gravedades

Resumen

Objetivo: Evaluar los niveles del Tr-DNA como biomarcador para la detección oportuna del cáncer de ovario y endometrio.

Material y métodos: Se realizó un estudio prospectivo, observacional, transversal y descriptivo, en el Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario "Dr. José E. González" de la UANL de junio del 2019 a octubre del 2019. Se conformaron dos cohortes de estudio, 1) Voluntarias femeninas contestaron una encuesta sobre percepción del dolor durante algunos procedimientos ginecológicos (papanicolaou, USTV, biopsia endometrial, histeroscopia, y colposcopia) más frecuentes comparativamente con la percepción de la toma de muestra de orina; y 2) Pacientes con diagnóstico clínico de Cáncer de Ovario (CO), Cáncer de Endometrio (CE), Patologías Benignas del Endometrio (PBE), Patologías benignas de ovario (PBO), así como voluntarias sanas, quienes tras firmar el Consentimiento Informado aportaron una muestra urinaria (100 ml) mediante la técnica del chorro medio. Se aisló el Tr-DNA urinario mediante un kit comercial, posteriormente fue cuantificado por fluorometría y caracterizado en un sistema de microelectroforesis capilar.

Resultados: Respecto a la cohorte independiente de voluntarias (n=64) los resultados sugieren a la recolección de orina como el procedimiento menos doloroso. Respecto a la cohorte de pacientes (n=42), se aisló y caracterizó exitosamente el Tr-DNA de orina, correspondiente a CO (n=10), CE (n=10), PBE (n=2), PBO (n=6), voluntarias sanas (n=14). Los niveles del Tr-DNA de pacientes con cáncer son mayores en comparación con las PBO, PBE, y voluntarias sanas; sin embargo, solo la comparación del grupo de CE vs el grupo de voluntarias sanas resultó estadísticamente significativo ($P = 0.0391$)

Conclusión: La toma de muestra de orina es un procedimiento menos invasivo comparado con los métodos actuales para el diagnóstico de los cánceres ginecológicos, resultando una opción prometedora como método diagnóstico. Los niveles del Tr-DNA de pacientes con cáncer ginecológico, ya sea de ovario y/o endometrio, presentan niveles elevados de Tr-DNA en comparación con los de pacientes con PBE, PBO, y voluntarias sanas.

Palabras clave: ADN transrenal, biomarcador, cell free, cáncer ginecologico, cáncer de endometrio, cáncer de ovario

1. Introducción

1.1 Cáncer ginecológico

El cáncer es una enfermedad en la cual las células del cuerpo comienzan a multiplicarse sin control. Los cánceres se identifican de acuerdo con la parte del cuerpo en que aparecen primero. Cuando el cáncer se origina en los órganos reproductores de la mujer, se denomina cáncer ginecológico (1). Los cánceres ginecológicos se originan en diferentes órganos reproductores ubicados en la zona pélvica, es decir, el área debajo del estómago y entre las caderas (Figura 1).

Los cánceres ginecológicos más frecuentes son:

- ❖ El cáncer de cuello uterino o Cáncer Cervicouterino (CaCU): se origina en el cuello del útero, que es la parte más baja y estrecha del órgano. (El útero también se conoce como la matriz.)
- ❖ El cáncer de ovario (CO): se origina en los ovarios, ubicados uno a cada lado del útero.
- ❖ El cáncer de útero (CU): se origina en el útero, un órgano con forma de pera situado en la zona pélvica, donde se desarrolla el bebé cuando una mujer está embarazada. El tipo de CU más frecuente es el Cáncer de Endometrio (CE).
- ❖ El cáncer de vagina: se origina en la vagina, el canal hueco ubicado entre la parte inferior del útero y el área externa del cuerpo.
- ❖ El cáncer de vulva: se origina en la vulva, la parte externa de los órganos genitales femeninos.

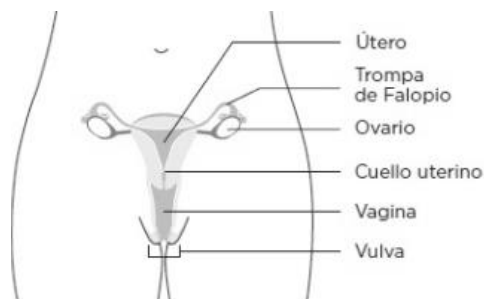


Figura 1 Tipos de cáncer ginecológico

La prevención y el diagnóstico temprano en el cáncer ginecológico se ha convertido en una realidad debido al reconocimiento de la génesis del cáncer en general, así como de su progresión, dados por un proceso caracterizado por una serie de eventos moleculares y genéticos.

1.1.1 El cáncer de endometrio y sus características clínico-patológicas

El CE es una neoplasia maligna que se origina de las células epiteliales endometriales (2). Es una entidad muy frecuente en países desarrollados, ocupando el primer lugar en incidencia en cáncer ginecológico (3). Debido a que sus síntomas, como el sangrado transvaginal, aparecen desde una etapa temprana, su tasa de curación es relativamente frecuente, con un pronóstico favorable en comparación con otras malignidades.

El adenocarcinoma representa el 90% de las neoplasias malignas de útero. Los subtipos clínico-patológicos-moleculares se dividen en 2 (Figura 2):

- ❖ El tipo I es el más común, presentándose en un 80% y está asociado a exposición de estrógenos, bajo grado (Endometriode), mutaciones PTEN, inestabilidad micro satelital.
- ❖ El tipo II no se relaciona con exposición hormonal y generalmente son de alto grado (seroso papilar) y presentan mutaciones en el gen TP53.

1.1.2 El cáncer de ovario y sus características clínico-patológicas

El CO es una de las neoplasias ginecológicas más letales que existen en la mujer (4). El tipo epitelial compromete cerca del 90% del total de los tumores malignos de ovario (5). En la actualidad se han hecho varios avances sobre la etiología de esta neoplasia. El

adenocarcinoma seroso papilar de alto grado, que conforma cerca del 80% del total de los cánceres de ovario epiteliales (COE), se origina del epitelio de las fimbrias de las trompas de Falopio (6). Así mismo, es diagnosticado en etapas avanzadas en un 60% de las veces, reduciendo el pronóstico y las opciones terapéuticas en estas pacientes (7).

El tipo de célula en la que se origine el cáncer determina el tipo de cáncer de ovario. Los tipos de cáncer de ovario son (8,9):

- El CO epitelial representa en cerca del 65% al 70% de todos los tumores malignos del ovario.
- Los más frecuentes son los serosos papilares en un 60%, aunque también existen otras histologías menos comunes como el tipo endometriode o células claras (ver Figura 2).

Clasificación histopatológica

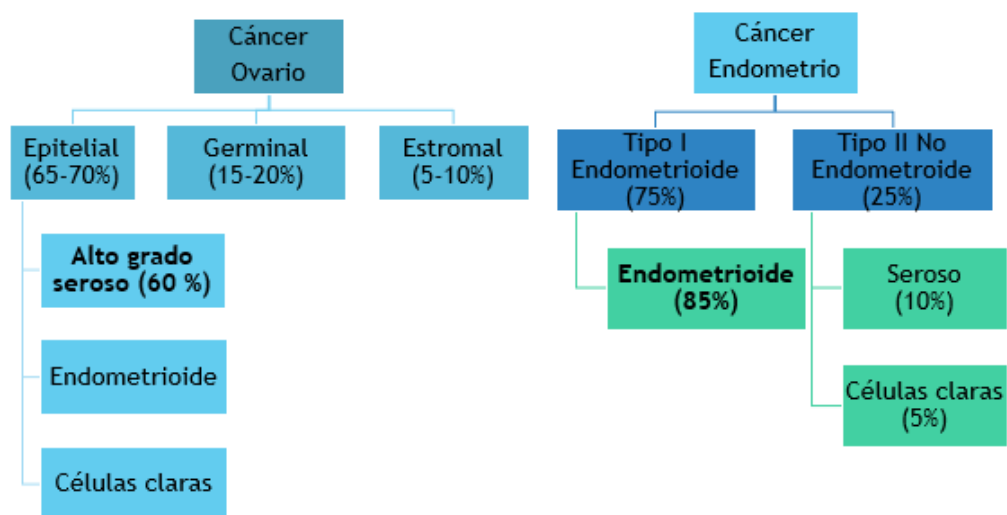


Figura 2 Clasificación histopatológica de los CO y CE (10).

1.2 Epidemiología

La epidemiología de estas neoplasias se describe en la Tabla I, y además se denota la relación de éstas versus Cáncer de Mama (CM) y el Cáncer Cervicouterino (CaCU).

Tabla 1. Epidemiología de neoplasias ginecológicas más frecuentes en la mujer (11)						
Cáncer Ginecológico	Mundial			Nacioal		
	Incidencia	Mortalidad	Prevalencia a 5 años	Incidencia	Mortalidad	Prevalencia a 5 años
CM	1,671,149	521,907	6,232,108	20,444	5,680	75,529
CaCU	527,624	265,672	1,547,161	13,960	4,769	47,000
CE	319,605	76,160	1,216,504	2,733	550	9,847
CO	238,719	151,917	586,624	3,277	2,105	9,048

El CE es la segunda neoplasia ginecológica más frecuente a nivel mundial, su incidencia es casi seis veces mayor en países desarrollados que en los menos desarrollados, aunque su mortalidad es menor que en aquellos países con menos desarrollo (12).

Por su parte, el CO, se reporta como menos común que el CM o el CaCU, aunque es más letal debido en gran medida a que ha sido subdiagnosticado, ya que no tiene presentación clínica específica y a que los signos y síntomas son similares al síndrome de colon irritable y a la enfermedad inflamatoria pélvica (13).

1.3 Diagnóstico y Tratamiento

Entre las herramientas estudiadas para la detección de CO en etapas tempranas como tamizaje se encuentran el interrogatorio y la exploración ginecológica, los marcadores tumorales, entre los que destaca el Ca125, el uso de métodos de imagen como el

ultrasonido y diversas herramientas multimodales. (8,14)

El marcador tumoral, Ca125 es un antígeno glucoprotéico que se eleva en el CO. Aproximadamente el 50 por ciento de los casos con etapas tempranas tendrán una elevación; y cerca de un 80 por ciento en etapas avanzadas (9). Aunque la sensibilidad del Ca125 es buena, su especificidad es limitada. Debido a la presencia de ciclos menstruales y una mayor cantidad de condiciones benignas, la tasa de falsos positivo para detectar CO es mayor en mujeres premenopáusicas; debido a que se puede elevar en muchas condiciones benignas como endometriosis, miomatosis uterina, cirrosis, enfermedad pélvica inflamatoria, menstruación o cualquier causa que ocasione irritación peritoneal. Por esto mismo, el estudio del Ca125 se ha limitado a mujeres postmenopáusicas, encontrando valores de corte ≥ 30 U/ml como un predictor para riesgo de CO (15) Así mismo, hay evidencia de que una medición anual no es efectiva para detectar CO en mujeres postmenopáusicas (16). Entre otros marcadores se encuentran la proteína Epididímica humana (HE4) y paneles con varios marcadores como el OVA1 o el OvaSure, sin embargo, aún no hay estudios que hayan validado estos marcadores (17).

Otro método que se ha estudiado es el uso de ultrasonido pélvico abdominal o transvaginal (USTV). El USTV parece tener una mejor capacidad para visualizar los ovarios, independiente del índice de masa corporal y requiere menor tiempo. Se considera un volumen normal de 10 cc en mujeres posmenopáusicas (18). Su sensibilidad va del 80 al 100 por ciento con una especificidad del 94 al 99 por ciento, dependiendo del operador (6).

Respecto al tratamiento, el abordaje terapéutico inicial para el CE consiste en establecer si la paciente es operable o no. La cirugía estadificadora de endometrio es de elección (etapa I), cirugía estadificadora con histerectomía radical (etapa II). La radiación está recomendada en etapas I y II (no operables). El tratamiento con quimioterapia es estándar en etapas avanzadas.

Los quimio-agentes más efectivos son el cisplatino, carboplatino, doxorubicina, paclitaxel; siendo de preferencia regímenes con multi-agentes (19,20).

Respecto al tratamiento para el CO, el tratamiento depende de la extensión de la enfermedad y del estado general de la paciente. Las modalidades más importantes son la cirugía y la quimioterapia (paclitaxel y carboplatino) (21–23).

1.4 Biopsia líquida (BL)

La BL es una técnica no invasiva que permite detectar biomarcadores de enfermedad en sangre y otros fluidos del cuerpo.

El Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos de América (EUA) define a la BL como una “Prueba que se realiza en una muestra de sangre en búsqueda de células cancerosas tumorales circulantes o trozos de Ácido Desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas del inglés)”. La BL presenta ventajas sobre otras técnicas de diagnóstico ya que la forma de obtención de los fluidos se realiza de una forma no invasiva o estresante como las biopsias quirúrgicas y estudios de imagen (24).

Los primeros avances de biopsia líquida se dieron en 1948, cuando se realizaron las primeras publicaciones del DNA libre circulante (cfDNA) y RNA presentes en sangre de humanos, lo que permitió discriminar entre pacientes con cáncer e individuos sanos (25). La BL o los biomarcadores tumorales en sangre tienen un gran valor en la detección temprana, predicción y pronóstico del cáncer (26,27).

La biopsia quirúrgica (BQ) es el “estándar de oro” para la investigación clínica y de secuenciación, sin embargo presenta grandes inconvenientes que pueden ser resueltos con la implementación de la BL, ya que brinda información genómica relacionada con múltiples sitios de metástasis. Presenta además la ventaja de poder ser fuente de diferentes fluidos corporales (plasma, suero, sangre, orina, etc.). Además, al ser representativa de la heterogeneidad del tumor que la origina, facilita los análisis moleculares de éste.

El cfDNA, es conocido por ser un biomarcador ya que liberado fragmentadamente hacia la circulación sanguínea mediante procesos como apoptosis y necrosis de las células normales y cancerosas (28,29). Cuando es liberado específicamente por células normales se le conoce como cfDNA, mientras que cuando es liberado por parte de las células cancerosas se le conoce como ctDNA.

Dentro de las características moleculares del cfDNA se encuentran que éste puede estar asociado a mutaciones, metilaciones y secuencias virales derivadas del tumor (28).

El cfDNA se encuentra principalmente en **plasma y suero**, sin embargo, puede ser aislado de ascitis, leche materna, fluido linfático y peritoneal, aspirado de médula ósea, **orina**, fluido prostático, lavado peritoneal, esputo, fluido cerebroespinal, jugo gástrico y biliar e inclusive heces (30).

Dentro de las características de este, las concentraciones de este material genético en pacientes con cáncer oscilan en un rango de 0 a 1,000 ng/ml de sangre, con un promedio de 180 ng/ml de ctDNA; mientras que en sujetos sanos oscila en un rango de 0 a 100 ng/ml de sangre, con un promedio de 30 ng/ml de cfDNA (31).

Los fragmentos de entre 180 y 1,000 bp son formados por mecanismos como apoptosis, mientras que fragmentos cercanos de 10,000 están asociados a procesos como necrosis.

El ctDNA ha sido detectado hasta en un 75% de los cánceres pancreático, ovárico, colorrectal, de vejiga, mama, cuello, hepatocelular, gastroesofágico y melanoma en estados avanzados; y hasta en un 50% de los casos de cáncer primario cerebral, renal, prostático y tiroideo (31); también, ha sido asociado en la metástasis de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) y cáncer de pulmón de células pequeñas (CPCP), entre otros tumores (32).

1.4.1 Biopsia líquida modalidad orina

La toma de muestra de orina como un método no invasivo que puede permitir el rastreo de ctDNA como biomarcador. Los análisis de orina contemplan los exámenes

físicos, químicos, microscópicos y biológicos (33). Sin embargo, recientemente se le ha atribuido a la orina ser fuente de DNA libre de células (del inglés cell free DNA, siglas cfDNA) en orina o también llamado DNA transrenal (Tr-DNA, por la abreviación de sus siglas en inglés). Este Tr- DNA es originado de procesos como apoptosis, o muerte celular programada, que es una forma importante de muerte celular en organismos multicelulares, la cual se ha descrito que se acompaña de una fragmentación internucleosómica del ADN nuclear, pudiendo atravesar la barrera renal y ser detectado en orina (34,35).

Ventajas del estudio del Tr-DNA en la búsqueda de biomarcadores: trabajos relacionados y antecedente directo.

Ciertas características singulares de la orina y su recolección no invasiva pueden ofrecerse como ventajas ante el estudio de biomarcadores que de una forma práctica permiten la detección de las principales funciones metabólicas del organismo.

El análisis del Tr-DNA es relativamente reciente; sin embargo, el primer estudio que demuestra la presencia de Tr-DNA fue el reportado en el año 2000 (35).

Desde entonces los investigadores se han enfocado en los análisis de microsatélites a fin de detectar cáncer de vejiga a través de muestras de orina (n=40) (36); detección de marcadores tumorales en el codón 12 del gen *KRAS* en el Tr-DNA de pacientes con cáncer colorrectal (n=68) (37); variaciones en el número de copias (CNV, del inglés Copy Number Variations) en Tr-DNA en genes como *PTEN*, *TMPRSS2*, *AR*, *NOTCH1* y *MYCL*, en pacientes con cáncer de próstata (n=19) (38); análisis de mutaciones en el Tr-DNA de pacientes con cánceres avanzados (CCR, CM y CPCNP), analizando

específicamente el exón 2 del gen *KRAS*, encontrando que el 44 % presentaba mutaciones detectables en el Tr-DNA y así como una buena concordancia del estatus de las mutaciones en el tejido y del Tr-DNA en el 73 % (n=71) (39). Se ha realizado además análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés Single Nucleotide Polymorphism) en pacientes con cáncer de vejiga (n=31) (40).

Recientemente, la compañía estadounidense TROVAGENE, cuenta con una tecnología que permite la medición altamente sensible del DNA tumoral circulante (ctDNA) en la orina para identificar y cuantificar biomarcadores clínicos para predecir la respuesta a las terapias contra el cáncer.

Domínguez Vigil y su equipo han propuesto a la biopsia líquida como fuente de biomarcadores para la detección de cánceres de ovario y endometrio en plasma, por lo que ahora nuestro enfoque es proponer a la orina como un método de detección de estas patologías. (47)

Aunado a esto y debido a que la fase preanalítica es crucial para futuros estudios genómicos, en el presente trabajo se busca aislar el Tr-DNA de orina de pacientes con cáncer ginecológico antes mencionados y determinar su nivel y su relación con otras patologías con características clínicas semejantes a dichas patologías, a fin de poder proponerlo como método de detección.

2. Justificación

Actualmente, los métodos de diagnóstico para detectar cualquier tipo de cáncer ginecológico no son sensibles / específicos; por lo tanto, la comunidad científica ha buscado metodologías alternativas como el análisis del cfDNA en sangre, para detectar este tipo de patologías tempranamente de forma no invasiva. La determinación de Tr-DNA en orina representa una fuente de análisis accesible que pudiera resultar útil en la detección y monitoreo de enfermedades cancerosas ginecológicas.

3. Hipótesis

El nivel de Tr-DNA urinario de pacientes con cáncer ginecológico de ovario y endometrio será mayor que el nivel de Tr-DNA de pacientes con patologías ginecológicas benignas (cistoadenoma seroso, cistoadenoma mucinoso, endometrioides, tumor de Brenner, teratoma, hiperplasia con o sin atipia, atrofia o pólipo endometrial) y/o voluntarias sanas.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Evaluar y comparar el nivel de Tr-DNA urinario de pacientes con cáncer ginecológico de ovario y endometrio vs en pacientes con patologías benignas (cistoadenoma seroso, cistoadenoma mucinoso, endometrioides, tumor de Brenner, teratoma, hiperplasia con o sin atipia, atrofia o pólipo endometrial) y voluntarias sanas, como fuente de biomarcador diagnóstico.

4.2 Objetivos específicos

1. Realizar asociaciones clínico-patológicas de pacientes diagnosticadas o con sospecha de CO, CE, patologías benignas (cistoadenoma seroso, cistoadenoma mucinoso, endometrioides, tumor de Brenner, teratoma, hiperplasia con o sin atipia, atrofia o pólipo endometrial) y voluntarias sanas.
2. Determinar los niveles del Tr-DNA de orina de pacientes con patologías ginecológicas mediante cuantificación fluorométrica.
3. Caracterizar el Tr-DNA de orina de pacientes con patologías ginecológicas.
4. Evaluar el grado de dolor e invasividad de los diferentes métodos diagnósticos para cáncer ginecológico y compararlo con la toma de muestra en sangre y orina.

5. Materiales y Métodos

Se realizó un estudio prospectivo, observacional, transversal y descriptivo, en el Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario "Dr. José E. González" de la UANL de Junio del 2019 a Octubre del 2019.

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con lo señalado en Declaración de Helsinki, Buenas Prácticas Clínicas, y las normas establecidas en la Ley General de Salud. Aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la UANL con el número de registro GI20-00004.

El presente estudio no produjo ninguno tipo de ganancia financiera o comercial por su realización, por lo que los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés por su realización.

Se solicitó al Departamento de Estadística del Hospital Universitario "Dr. José E. González" de la UANL, la base de datos con el número de expediente de las pacientes que cursaron con tumoraciones de ovario de características benignas, cáncer de ovario, hiperplasia, atrofia o pólipo endometrial y cáncer de endometrio que recibieron atención en dicha institución.

Se incluyeron en el estudio todas aquellas pacientes femeninas mayores de 18 años sin tratamiento previo a su diagnóstico clínico con lesión anexial y/o endometrial (patologías benignas del ovario (PBO) o del endometrio (PBE) con confirmación histológica mediante biopsia incisional o excisional que acudieron a consulta ginecológica por una biopsia de endometrio o refirieron períodos menstruales anormales (sangrado profuso, prolongado o irregular), sangrado después de la menopausia, sangrado por tomar medicamentos de hormonoterapia, engrosamiento del revestimiento uterino observado en una ecografía o en el diagnóstico de cáncer endometrial u ovárico y que aceptaron participar en el estudio mediante la firma del

Consentimiento Informado además de voluntarias femeninas (aparentemente) sanas y mayores de 18 años.

Se excluyeron aquellas pacientes menores de edad, embarazadas, que hubieran estado en tratamiento quimioterapéutico y/o quirúrgico para los diagnósticos antes mencionados, con VIH o hepatitis C y pacientes con infecciones urinarias en el grupo de voluntarias sanas. A su vez, se eliminaron aquellas pacientes en las que la muestra resultó en cantidad o calidad de sus ácidos nucleicos inadecuada para llevar a cabo los experimentos

Tras firmar el Consentimiento Informado proporcionaron muestra urinaria (100 ml) mediante la técnica del chorro medio, a partir de las cuales se obtuvo el Tr-DNA de 4 ml de orina con kits comerciales. Los Tr-DNA fueron cuantificados por fluorometría y caracterizados mediante un sistema de microelectroforesis capilar. Posteriormente se evaluó el nivel de Tr-DNA de cada paciente. Para esto fue necesario dividir a las pacientes en 5 grupos:

Grupo I: pacientes diagnosticadas con CE

Grupo II: pacientes con CO

Grupo III: pacientes con diagnóstico de lesión anexial, tales como quistes, teratomas, cistoadenomas (PBO)

Grupo IV: pacientes con diagnóstico de lesión endometrial tales como hiperplasia, pólipo (PBE)

Grupo V: voluntarias sanas

A todas las muestras se les extrajo Tr-DNA mediante el estuche comercial QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit de la marca Qiagen. Se realizó la caracterización del Tr-DNA, confirmando la obtención y el tamaño en pares de bases de los ácidos nucleicos, Tr-DNA, mediante un equipo de microelectroforesis capilar. Finalmente se realizaron las asociaciones

estadísticas necesarias para las comparaciones entre grupos, en el programa estadístico GraphPad Prism versión 5. Se consideró un intervalo de confianza del 95%.

5.1 Métodos

5.1.1 Recolección de información clínica de los sujetos de estudio:

El diagnóstico definitivo de las pacientes del estudio se cotejó con los reportes de patología. Debido a que diversas patologías ginecológicas benignas presentan síntomas clínicos similares a las patologías cancerosas de ovario y endometrio, es fundamental contar con el diagnóstico definitivo de estas. Este diagnóstico es generado mediante un análisis histopatológico del tejido en cuestión para de esta manera clasificar las patologías, por lo que una vez se reporte este diagnóstico en el departamento de patología, se clasificaron los grupos para poder establecer las asociaciones clínico- patológicas de una manera certera.

5.1.2 Encuesta de percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos:

La aplicación de la encuesta “Percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos” es con el objetivo de complementar el estudio respecto al tema de invasividad de las técnicas ginecológicas actuales para la detección o tratamiento de patologías ginecológicas (50). La encuesta evaluó cinco procedimientos ginecológicos: ultrasonido transvaginal, Papanicolau, biopsia endometrial, histeroscopia y colposcopia; con 4 reactivos a calificar y 3 preguntas. Ver anexo 1.

- 1) Si el procedimiento resultó doloroso

- 2) Si el procedimiento resultó como esperaba
- 3) Comparado con una toma de muestra sanguínea
- 4) Compararlo con una toma de muestra de orina
- 5) Si se volverá a someter a ese procedimiento de ser necesario
- 6) ¿Cuál procedimiento le parece menos invasivo?
- 7) ¿Cuál procedimiento le parece menos doloroso?

Cada pregunta cuenta con 4 opciones como respuesta, en donde se da la opción al sujeto de marcar si el procedimiento le pareció 1: nada doloroso, 2: menos doloroso de lo que esperaba, 3: doloroso como lo esperaba o 4: más doloroso de lo que esperaba.

5.1.3 Aislamiento de Tr-DNA de orina:

Las muestras de orina fueron colectadas en frascos estériles de orina e inmediatamente transportadas al laboratorio, donde fueron colocadas en tubos BD vacutainer especiales para orina (tapa amarilla con rojo) con reactivos para su preservación. Posteriormente, los tubos fueron almacenados a -80°C para evitar la degradación del Tr-DNA. La extracción de ácidos nucleicos se llevó a cabo utilizando el estuche comercial QIAmp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen), el cual garantiza la extracción de ácidos nucleicos a partir de orina. Antes de procesar las muestras, estas se descongelaron gradualmente y se centrifugaron a 16,000 g por 10 min a 4°C, tomando solo el supernadante que contiene el Tr-DNA.

Protocolo: Purificación de ácidos nucleicos circulantes, a partir de 4 ml de orina (protocolo en QIVac)

Pasos para realizar antes de comenzar:

- Rotular las muestras (tapa y tubo)
- Hielo
- Baño de agua

- Tubos Falcon 50 ml (1 por muestra)
- 4 ml de orina (en caso de ser menor el volumen, ajustar con PBS 1X)
- Thermomixer a 56°C
- Baño de agua a 60°C

Procedimiento:

- 1 Añadir 500 µl de Proteinasa K Qiagen a un tubo Falcon de 50 ml.
- 2 Añadir 4 ml de orina en el tubo Falcon.
- 3 Añadir 4 ml de Buffer ACL y 1 ml de Buffer ATL. Dar vórtex por 30 s.
- 4 Incubar 30 minutos en el baño de agua a 60°C.
- 5 Retirar del baño de agua.
- 6 Añadir 9 ml de Buffer ACB. Dar vórtex por 15-30 s.
- 7 Incubar en hielo por 5 minutos.
- 8 Insertar las columnas QIAamp mini column en el manifold del VacConnector y QIAvac 24 Plus. Insertar el tubo extendedor en la columna. Guardar los tubos de colecta para la elusión final.
- 9 Añadir CUIDADOSAMENTE la muestra (del paso 7) en el tubo extendedor. Encender la bomba de vacío. Cuando la muestra haya atravesado la columna completamente, apagar la bomba. Cuidadosamente remover el tubo extendedor.
- 10 Añadir 600 µl del Buffer ACW1 a la columna. Encender la bomba de vacío. Cuando la muestra haya atravesado la columna completamente, apagar la bomba.
- 11 Añadir 750 µl del Buffer ACW2 a la columna. Encender la bomba de vacío. Cuando la muestra haya atravesado la columna completamente, apagar la bomba.
- 12 Añadir 750 µl del Etanol 96-100% a la columna. Encender la bomba de vacío. Cuando la muestra haya atravesado la columna completamente, apagar la bomba.

- 13** Cerrar la tapa de la columna, retirarla del manifold y colocarla en el tubo de colecta, y centrifugar a máxima velocidad (20,000 g; 14,000 rpm) durante 3 min.
- 14** Colocar la columna en un nuevo tubo de colecta. Abrir la tapa de la columna e incubar por exactamente 10 minutos a 56°C en el termo mezclador (sin agitación), con la finalidad de secar la columna.
- 15** Colocar la columna en un nuevo tubo de colecta y añadir **30** µl de Buffer AVE en el centro de la columna. Cerrar la tapa e incubar por 3 min a temperatura ambiente.
- 16** Centrifugar a máxima velocidad (20,000 g; 14,000 rpm) durante 1 min para eluir los ácidos nucleicos. Colocar el eluato en un tubo de 600 µl.
- 17** Realizar una segunda elusión: Colocar la columna en un nuevo tubo de colecta y añadir 15 µl de Buffer AVE en el centro de la columna. Cerrar la tapa e incubar por 3 min a temperatura ambiente.
- 18** Centrifugar a máxima velocidad (20,000 g; 14,000 rpm) durante 1 min para eluir los ácidos nucleicos. Colocar el eluato en un tubo de 600 µl.

5.1.4 Detección de los niveles del Tr-DNA de orina:

La cantidad o niveles del Tr-DNA fue analizada mediante un fluorómetro (Qubit 3.0 Life Technologies) con el estuche comercial Qubit™ dsDNA HS Assay (Life technologies), el cual tiene la capacidad de detectar concentraciones mínimas de ácidos nucleicos, con un rango de 0.2-100 ng. En este trabajo utilizamos 2 µl de la muestra. Además, se utilizó una curva de calibración estándar de dos puntos, sugeridos por el fabricante, a fin de determinar de manera verídica la concentración del Tr-DNA. Las cuantificaciones del Tr-DNA se llevaron a cabo por duplicado para confirmar la validez del resultado ante errores reproducibilidad y lectura.

Procedimiento (41)

1. Conectar el regulador al tomacorriente por la parte de atrás del equipo, no tiene botón

de encendido, el aparato arranca unos segundos después de que es conectado.

2. Se prepara previamente una solución stock de trabajo para el conjunto de muestras y los estándares calculando $199\ \mu\text{L}$ de buffer Qubit dsDNA HS + $1\ \mu\text{L}$ de colorante fluoróforo (dye) (volumen total es de $200\ \mu\text{L}$) en tubos Qubit o Axigen por cada una de las muestras, adicionales se preparan otros $200\ \mu\text{L}$ de solución de trabajo para cada estándar y otros $400\ \mu\text{L}$ extras de acuerdo a la siguiente ecuación: (Número de muestras $\times 199\ \mu\text{L}$ buffer + $1\ \mu\text{L}$ dye) + 2 estándares ($199\ \mu\text{L}$ buffer + $1\ \mu\text{L}$ dye) + 2 volúmenes extras de $199\ \mu\text{L}$ + $1\ \mu\text{L}$ dye = volumen total; calcular el volumen total en función del número de muestras y los dos estándares, prepararlo juntos para evitar sesgos en la medición, agregar la solución de colorante al final y protegerla de la luz siempre. Homogeneizar el dye en vortex y darle un espín corto en centrífuga, homogeneizar también la solución final en vortex.
3. Etiquetar un tubo para cada muestra y uno para cada estándar, tomar $199\ \mu\text{L}$ del stock para cada muestra en un tubo nuevo y agregarle $1\ \mu\text{L}$ de muestra, homogeneizar en vortex.
4. El primer menú de opciones que el equipo muestra es el menú de ensayos, presionar sobre la pantalla ADN de doble cadena (dsDNA, DNA de doble cadena, por sus siglas en inglés) y luego High sensitivity y después read standards.
5. Antes de leer las muestras se debe calibrar el equipo para ello se lee la mezcla de los estándares (tubo rojo estándar 1, tubo amarillo estándar 2) con la solución de trabajo, estos se preparan mezclando $190\ \mu\text{L}$ del stock con $10\ \mu\text{L}$ de cada estándar (homogeneizar cada estándar en vortex y darle un espín ligero antes de hacer la mezcla), homogeneizar e incubar dos minutos antes de leer.
6. El equipo pide leer primero el estándar 1, de este solo graficará los dos primeros valores de la curva, después se lee el estándar 2, los valores de las muestras deben estar en el rango de los valores de la curva de calibración; se coloca el tubo del

estándar la cavidad de la parte superior, se cierra la cubierta y se presiona en leer estándar.

7. Una vez leídos los estándares, el equipo mostrará una gráfica con los valores obtenidos y dará la opción de leer las muestras.
8. Al terminar de leer los estándares se prepara la mezcla de solución de trabajo (stock) con la muestra agregando 2 μL de esta a 198 μL de solución del stock se incuba 3 minutos después de la homogenización en vortex y se debe leer inmediatamente, si pasa mucho tiempo habrá un sesgo en los valores leídos, usualmente de usa 1 μL pero se recomiendan 2 μL , en este caso ajustar el Qubit para que lea las muestras a 2 μL , se puede ajustar a 5 μL o más dependiendo del experimento, para ADN 2 suelen ser suficientes.
9. El valor final de la concentración aparece dentro del círculo al terminar la lectura de la muestra, estos datos pueden exportarse desde un puerto USB en la parte trasera del equipo, o bien el equipo puede conectarse a una computadora para exportar los datos presionando en la opción Data.
10. Se recomienda dar un vortex a los tubos antes de leerlos e incubarlos dos minutos, también es importante leer los tubos dos veces, primero toda una vez y luego todos de nuevo, más no leer un mismo tubo dos veces seguidas.
11. Se recomienda leer los tubos inmediatamente ya que el colorante (dye) tiende a degradarse con la luz y después de un tiempo si la muestra se vuelve a leer el equipo arroja resultados distintos y sesgados, a veces arriba del valor original leído y a veces debajo.
12. Al terminar de leer se recomienda desconectar el equipo.

5.1.5 Caracterización del Tr-DNA de orina:

Tras conocer el nivel del Tr-DNA, se caracterizó el Tr-DNA, analizando los tamaños (en bp) de este, mediante una microelectroforesis capilar que permite la identificación exacta del tamaño del Tr-DNA.

Se empleó el Bioanalizador QIAxcel Advanced System y el estuche QIAxcel DNA High Resolution Kit (Qiagen®). Este equipo utiliza la minielectroforesis capilar en gel para permitir la rápida separación de los ácidos nucleicos, en este caso el Tr-DNA, en base a su tamaño. Esta separación se realiza de manera individual por muestra, en la cual, tras la aplicación de un voltaje, se produce la migración del Tr-DNA cargado negativamente hacia el extremo positivo. Un detector colocado en el instrumento detecta al Tr-DNA, y los datos son convertidos en un electroferograma.

Procedimiento

1. Pipetear 1 µl de cada muestra de Tr-DNA y 1 µl de QX DNA marker en tubos de 0.2 ml.
2. Añadir QX DNA Dilution Buffer hasta alcanzar los 10 µl de solución.
3. Introducir las muestras en el bioanalizador y analizar los resultados.

5.1.6 Generación del Biobanco y archivo electrónico:

Las muestras fueron procesadas con material nuevo y estéril para evitar la contaminación cruzada entre las mismas. Los ácidos nucleicos extraídos (Tr-DNA) de las muestras de orina se conservarán en 2 alícuotas a -20°C, la primer alícuota se utilizó en la cuantificación y la segunda alícuota se utilizó para la caracterización del Tr-DNA. Cada paciente cuenta con un archivo electrónico en donde se almacena toda la información relevante generada en la hoja de recolección de datos, contando, además, con una clave de seguridad para garantizar la confidencialidad de los datos de identidad. La información es almacenada en archivos confidenciales, a los cuales sólo tienen acceso los investigadores del proyecto. Por medio de estas herramientas se garantiza un manejo de

muestras clínicas y sus datos asociados de manera institucional y ética.

5.1.7. Análisis de datos

Se utilizó la fórmula de estimación de media en poblaciones para evaluar Tr-DNA como biomarcador para la detección oportuna de cáncer de ovario y endometrio.

ESTIMACIÓN DE MEDIA EN DOS POBLACIONES				
$n = \frac{K(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$				
				X GRUPO
valor K	15.8	249.64	6355.55	
sigma 1	20	400	402.25	n = 5.18820408
sigma 2	1.5	2.25		
valor μ_1	40	1225		
valor μ_2	5			

Figura 3 Estimación estadística del número de pacientes por grupo

Esperando una media (DE) Tr-DNA de 40(20) y 5(1.5) en pacientes con malignidad y benignidad respectivamente, con una significancia de 0.025, una potencia de 95%, un intervalo de confianza de 95 (IC95%) dada una K de 15.8 se requieren al menos 6 sujetos de estudio por grupo (se incluyeron 5 grupos) con al menos 30 sujetos como población muestral a estudiar.

5.1.8 Análisis estadístico

En la estadística descriptiva se reportaron frecuencias y porcentajes para variables categóricas. Para las variables cuantitativas se reportaron medidas de tendencia central y dispersión. Los grupos, se compararon mediante la prueba de T-student de manera no pareada, y ANOVA de una vía. Se consideró un intervalo de confianza del 95%. Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism v5.

6. Resultados

6.1 Características de la población de estudio

Participaron 42 pacientes femeninas, con un rango de edad de 18-75 años y una edad promedio de 45 años, con Índice de Masa Corporal (IMC) promedio de 32.

Las características de esta cohorte de pacientes son: la mayoría de las pacientes pertenecen al estado de Nuevo León (53%), la ocupación más frecuente fue ama de casa (58.1%), la escolaridad más frecuente entre las encuestadas fue nivel secundaria (33.9%); del 68% de las pacientes que presentaba obesidad, la obesidad ginecoide fue la más frecuente (72.7%); del 86.7% de las mujeres que tenía hijos, el 36.5% tenía 3 hijos; del 48.4% que realizaba algún tipo de ejercicio, la caminata fue el tipo de ejercicio más frecuente (63%).

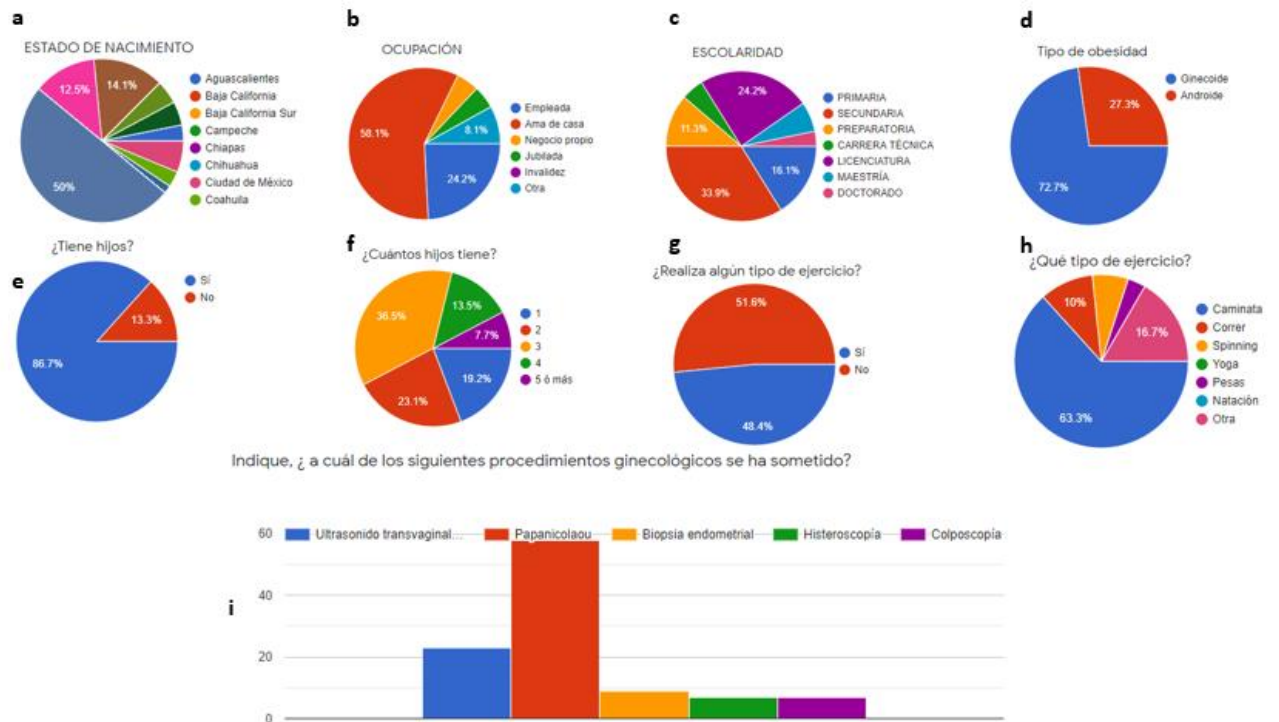


Figura 4 Características de la cohorte independiente de la encuesta de percepción del dolor. a) Estado de nacimiento; b) Ocupación; c) Escolaridad; d) Tipo de obesidad; e) Hijos; f) número de hijos; g) ejercicio; h) tipo de ejercicio; i) procedimientos ginecológicos a los que se ha sometido.

La descripción clínica de los grupos de estudiados se encuentra en la tabla 2. Cabe destacar que las patologías del ovario y endometrio cuentan con una amplia gama de categorías; sin embargo, para simplificar estos resultados se describen sólo como benignos o cáncer.

Tabla 2. Grupos de estudio y sus características clínicas

VARIANTES		CE	CO	PBO	PBE		SANAS
n=		10	10	6	2		14
%		23	23	14	4.7		33
EDAD	PROMEDIO (años)	56	47	44	54		38
	RANGO (años)	44-64	29-75	23-62	46-62		18-56
IMC	PROMEDIO	36	27	33	41		30
DIABETES	%	45	10	16	0		10
MENOPAUSIA	%	100	50	33	100		55
FUMA	%	27	0	33	0		0
ALCOHOL	%	0	10	16	0		50

CE: cáncer de endometrio CO: cáncer de ovario PBO: patología benigna de ovario PBE: patología benigna de endometrio

6.2 Descripción clínica de los grupos de pacientes

Respecto a las asociaciones clínico-patológicas de pacientes diagnosticadas o con sospecha de CO, CE, PBE, PBO, o voluntarias sanas, se detallan a continuación los hallazgos:

- ❖ Respecto a las PBE se registraron 2 (4.7%) casos de hiperplasia endometrial simple (n=1) y pólipo endometrial (n=1), resultando estar dentro del rango de edad similar a las pacientes con CE (46 a 62 años). Además, las pacientes presentaron obesidad, lo cual previamente se ha asociado con un aumento del riesgo relativo para padecer CE, además de que ambas pacientes se encontraban en menopausia (48).
- ❖ Respecto a las PBO, se realizaron n=6 (14%) diagnósticos por

patología, que incluyeron teratoma (n=1), cistoadenomas (n=3) y quistes (n=2). La edad en la que fueron presentadas es menor en relación a las pacientes con CO, 23 a 62 años. La mayoría de las pacientes de este grupo presentaban sobrepeso u obesidad

❖ Respecto al grupo de pacientes con CE (n=10, 23%), 8 se encontraban en estadio I, una paciente en estadio II y una paciente en estadio III, por lo que de manera general estos casos se presentaban en estadios tempranos en quienes se encontró edad promedio de 56 años y todas ellas con diagnóstico de menopausia y la diabetes mellitus resultó la comorbilidad más predominante.

❖ Respecto al grupo de pacientes con CO (n=10, 23%), dos pacientes se encontraban en estadio I, dos pacientes en estadio II y 6 pacientes en estadio III, por lo que de manera general estos casos se presentaron en estadios tardíos. En este grupo el rango de edad se reportó de 29 a 75 años, presentaban IMC de 27 y solo 50% se encontraba en menopausia.

❖ Respecto al grupo de voluntarias sanas (n=14, 33%), su edad oscilaba en el rango de 18 a 56 años, el 55% de ellas se encontraba en la menopausia.

6.3 Aislamiento y cuantificación de los niveles del Tr-DNA:

Se generó un biobanco de muestras de orina. Todas las muestras fueron clasificadas y codificadas especialmente para su identificación. Después de aislarse se almacenaron a -20°C hasta su posterior cuantificación fluorométrica.

Se aisló exitosamente el Tr-DNA de 42 muestras de orina, perteneciente a pacientes con CE (n=10), CO (n=10), PBO (n=6), PBE (n=2), y voluntarias sanas (n=14) a partir de 4 ml de orina.

Como se aprecia en la Figura 5, se compararon los niveles del Tr-DNA de orina de las pacientes y voluntarias, las cuales fueron previamente

agrupadas. Se realizaron los análisis estadísticos pertinentes para las comparaciones grupales. Gracias a ello se pudo establecer que existe una diferencia estadística significativa ($P = 0.0391$) referente al nivel de Tr-RNA entre los grupos de CE y las voluntarias sanas. Los demás grupos no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

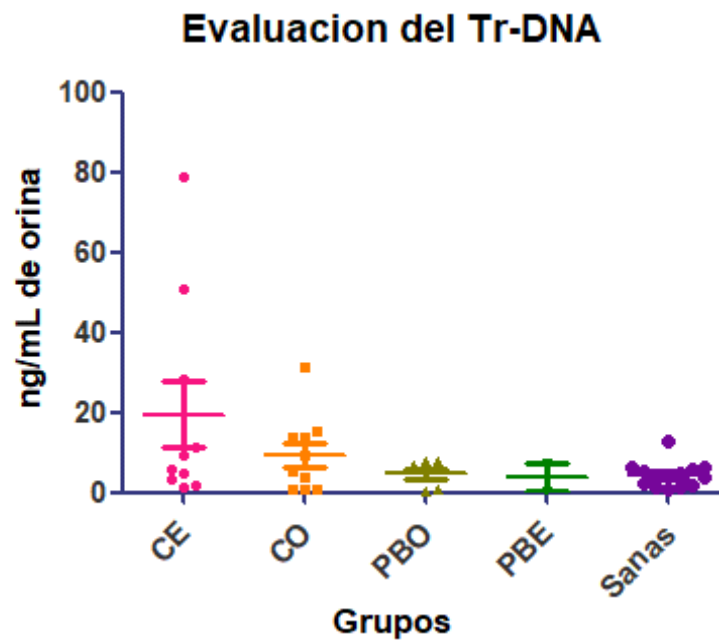


Figura 5 Evaluación de los niveles del Tr-DNA en los diferentes grupos del estudio.

6.4 Caracterización del Tr-DNA:

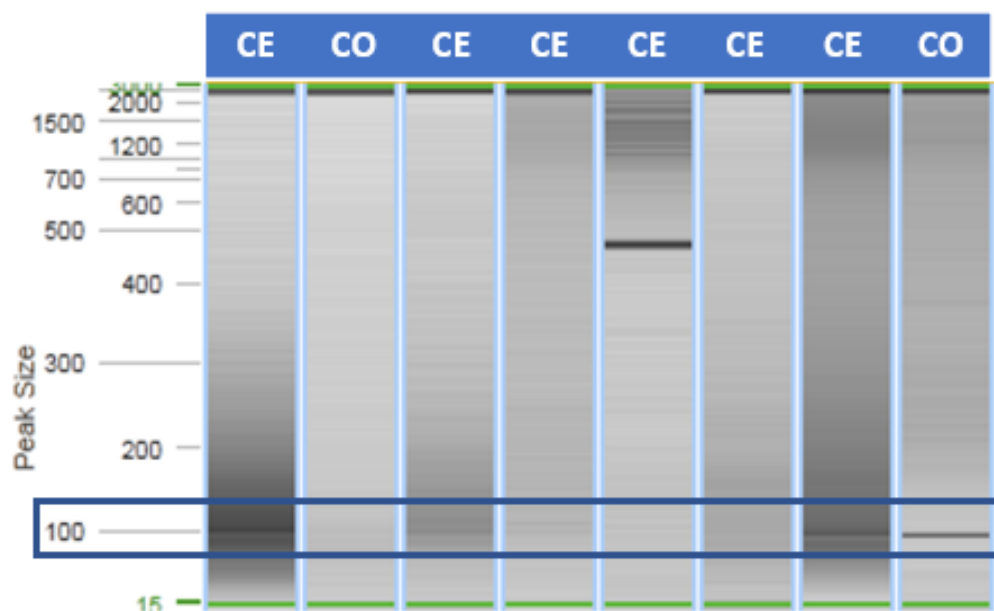


Figura 6 Microelectroforesis capilar representativa de la caracterización del Tr- DNA de orina de pacientes con CE y CO

6.5 Aplicación de encuesta de percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos

El objetivo de la encuesta era evaluar y comparar la percepción de las mujeres durante procedimientos ginecológicos, los más frecuentes. Los beneficios de esta encuesta permiten conocer su percepción, y en un futuro, la toma de decisiones respecto a los procedimientos actuales, es decir, resulta imperativo contar con un método de diagnóstico o tratamiento que favorezca a la paciente incluso cuando el procedimiento resulte doloroso, sin embargo es sumamente importante considerar que un método de diagnóstico ideal, aparte de las características básicas (específico, sensible, etc.) que sea no invasivo y que además sea considerado por las pacientes como indoloro, sería ideal.

Es por ello, que se seleccionó una cohorte independiente de femeninas (n=64), esto con motivo de no crear un sesgo en las respuestas (comparado con las pacientes que donaron muestra para el estudio, las cuales al conocer el objetivo actual del estudio pudieran sesgar los resultados de este). Además, se les pregunto a cuáles de los procedimientos ginecológicos indicados anteriormente se habían sometido, y los más frecuentes fueron el Papanicolaou (58%) y USTV (23%), los cuales son dos de los más frecuentemente utilizados en la práctica clínica. Algunas mujeres que se habían sometido a uno o más procedimientos ginecológicos a lo largo de su vida. Consecuentemente, y de manera individual a cada procedimiento, se les cuestionó si el procedimiento al que se sometieron fue como se esperaba y sus comparaciones contra otros tipos de procedimientos como la muestra de sangre periférica y la toma de muestra de orina (por la propia paciente), y en general, si de volverse a necesitar o requerir, se sometería de nuevo a este procedimiento. En la Figura 7, se puede observar que el 50% de las mujeres consideran al USTV como un procedimiento doloroso pero tolerable; que al 58% le resultó como lo esperaba; que al 42% le parece menos doloroso que

una toma de sangre; que al 73.1% le parece menos doloroso que una muestra de orina, y finalmente que el 88.9% volvería a someterse al USTV de ser necesario.

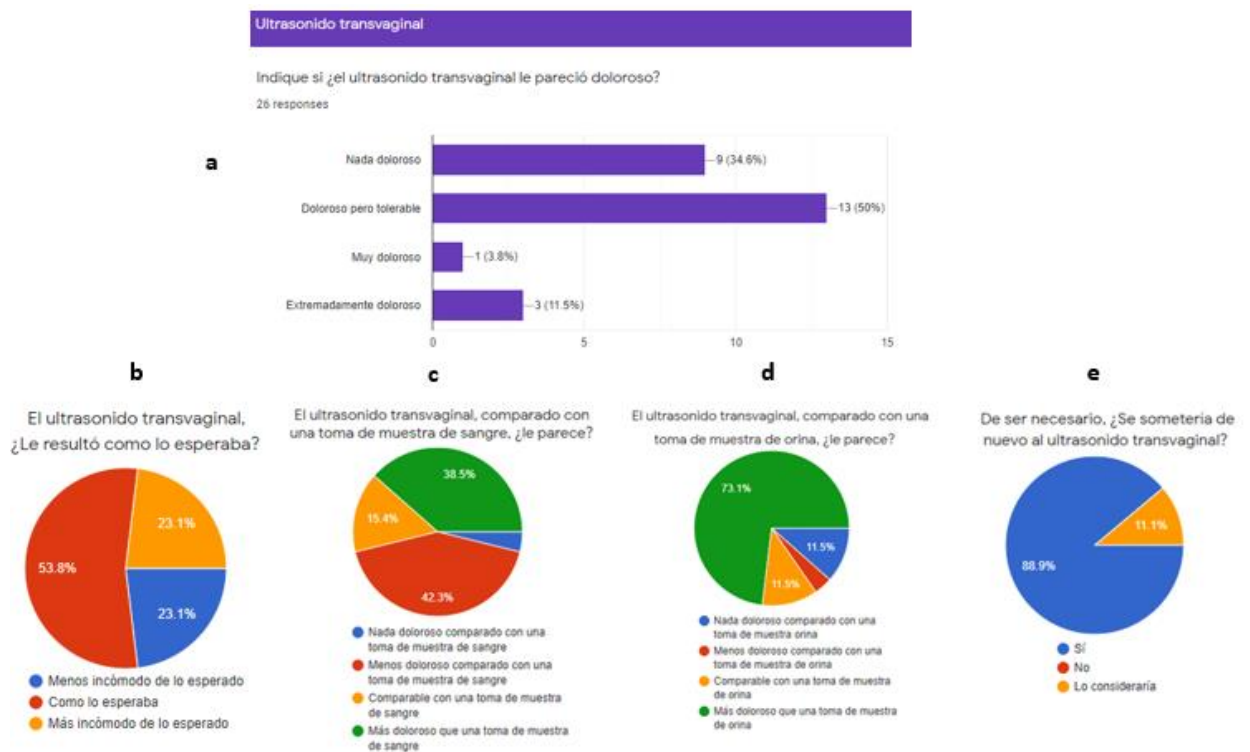


Figura 7 Percepción del USTV. a-e): Percepción general del procedimiento y sus comparaciones con una toma de muestra de sangre, orina, y percepción futura.

En la Figura 8, se aprecia que el 44.1% de las mujeres consideran al Papanicolaou como un procedimiento doloroso pero tolerable; que al 49.2 % le resultó como lo esperaba; que al 44.1% le parece más doloroso que una muestra de sangre; que al 86% le parece más doloroso que una muestra de orina, y finalmente que el 100% de ellas volvería a someterse al Papanicolaou de ser necesario.

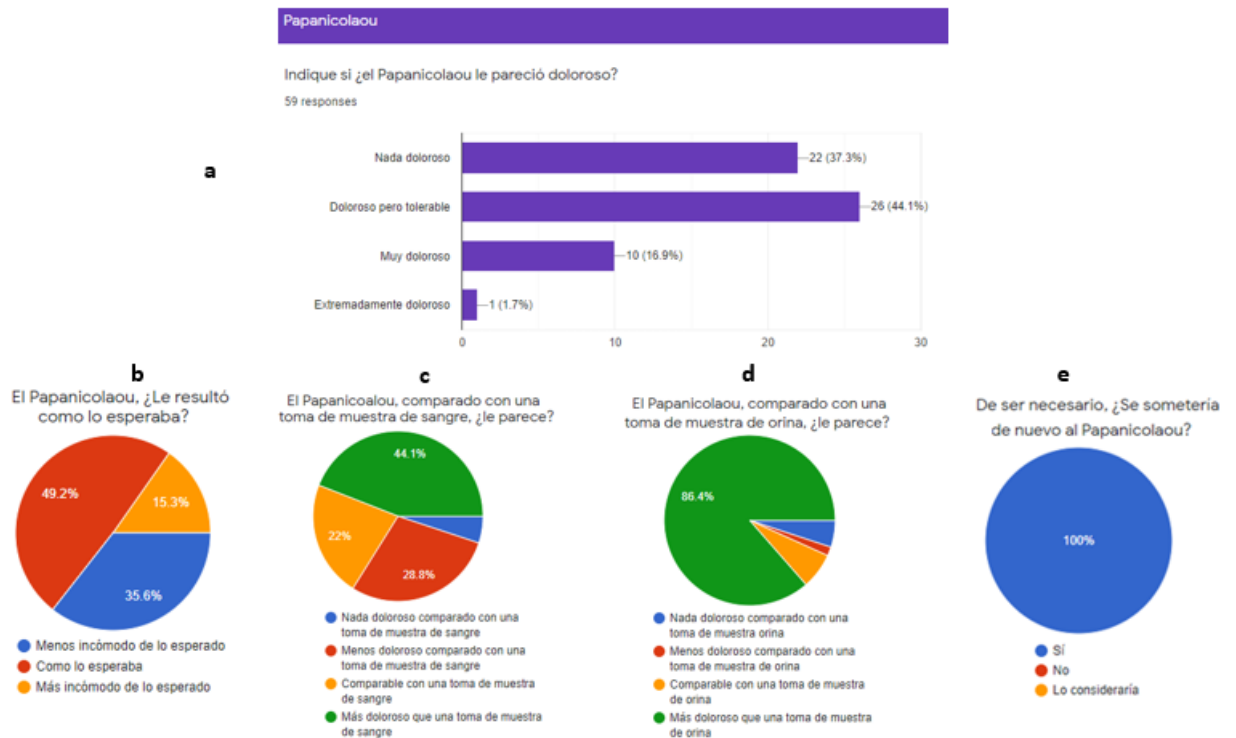


Figura 8 Percepción del Papanicolaou. a-e): Percepción general del procedimiento y sus comparaciones con una toma de muestra de sangre, orina, y percepción futura.

Por su parte, respecto a la biopsia endometrial, en la Figura 9 podemos observar que todas las mujeres describen este procedimiento ginecológico como doloroso, ya sea tolerable, muy doloroso o extremadamente doloroso. Además, el 78.6% de ellas lo considera como más incómodo de lo esperado; el 100% de ellas lo describe como más doloroso que una muestra de sangre y de orina, y finalmente, el 69.2% de ellas se volvería a someter a la Biopsia Endometrial de ser necesario.

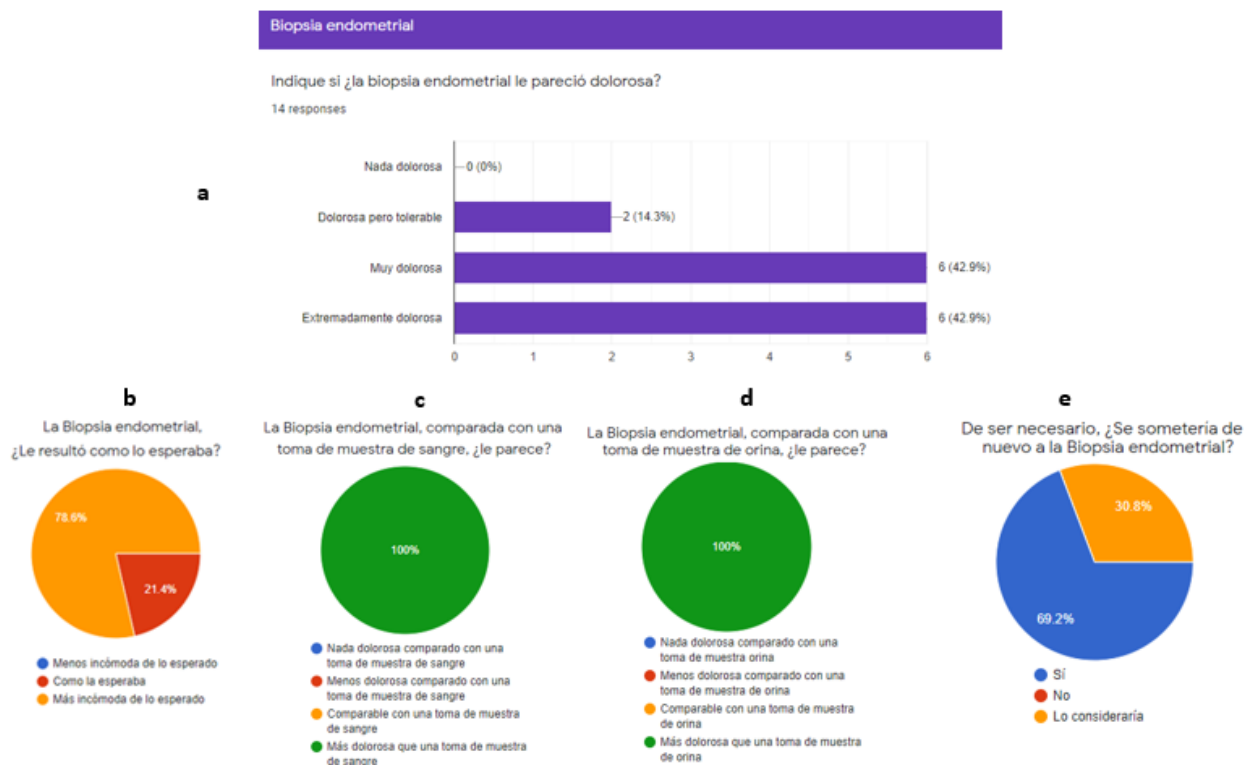


Figura 9 Percepción de la Biopsia Endometrial. a-e): Percepción general del procedimiento y sus comparaciones con una toma de muestra de sangre, orina, y percepción futura.

Respecto a la histeroscopia, la mayoría de las mujeres encuestadas comentaron que fue dolorosa; el 60% de ellas la describe como más incómoda de lo esperado; el 80% la cataloga como más dolorosa que una muestra de sangre; el 100% de ellas la cataloga como más dolorosa que una muestra de orina, y finalmente, el 70% de ellas se sometería a la histeroscopia de ser necesario, como podemos ver en la Figura 10.

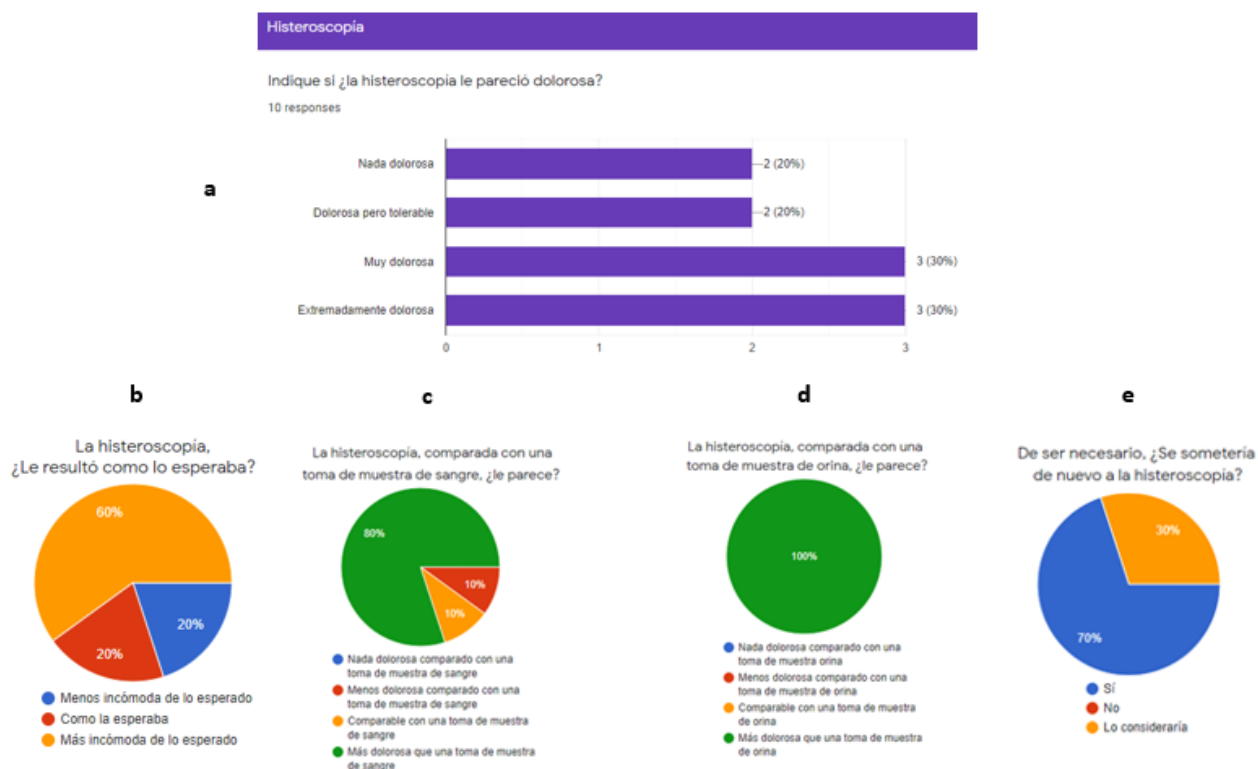


Figura 10 Percepción de la Histeroscopia. a-e): Percepción general del procedimiento y sus comparaciones con una toma de muestra de sangre, orina, y percepción futura.

Respecto al último de los procedimientos ginecológicos analizados, en la Figura 11 podemos observar que la mayoría de las mujeres encuestadas considera a la colposcopia como dolorosa; que el 44.4% la considera más dolorosa de lo que esperaban; el 66.7% de ellas cataloga a la colposcopia como un procedimiento más doloroso que una muestra de sangre; el 88.9% de ellas lo cataloga como más dolorosa que una muestra de orina; finalmente, el 88.9% de ellas se sometería de nuevo a la Colposcopia de ser necesario.

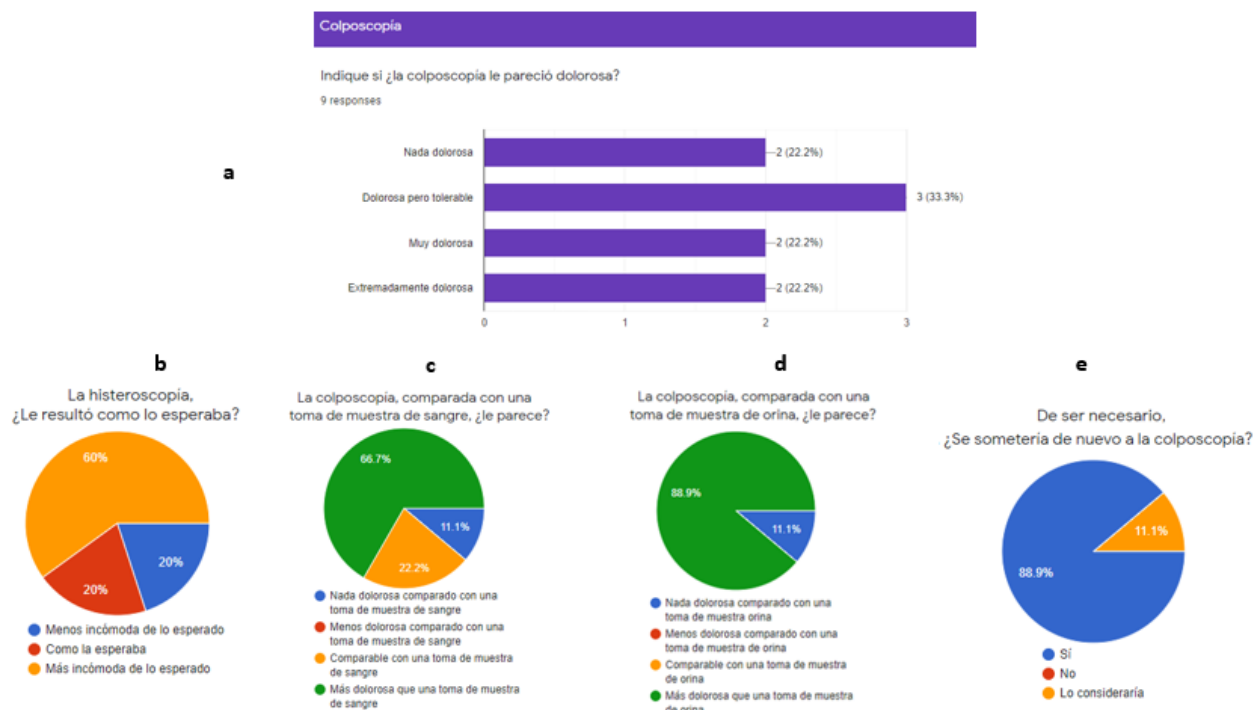


Figura 11 Percepción de la Colposcopia. a-e): Percepción general del procedimiento y sus comparaciones con una toma de muestra de sangre, orina, y percepción futura.

Interesantemente queremos remarcar que el 11.1%, 30.8%, 30% y 11.1 % de las mujeres encuestadas **“consideraría” someterse** al USTV, biopsia endometrial, histeroscopia o colposcopia, respectivamente. A excepción del Papanicolaou, al cual, todas sí se someterían a este procedimiento en un futuro.

Es por ello por lo que al final de nuestra encuesta de percepción, nosotros preguntamos de manera general, en su opinión, cuáles de los procedimientos ginecológico arriba mencionado consideraban el más y / o menos doloroso. Los resultados se encuentran en la Figura 12. **Las mujeres encuestadas en este estudio describen a la toma de muestra de orina como el procedimiento menos doloroso (87.5%)** comparado con todos los antes mencionados; mientras que a la toma de muestra de sangre y la describen como la más dolorosa (35.9%).

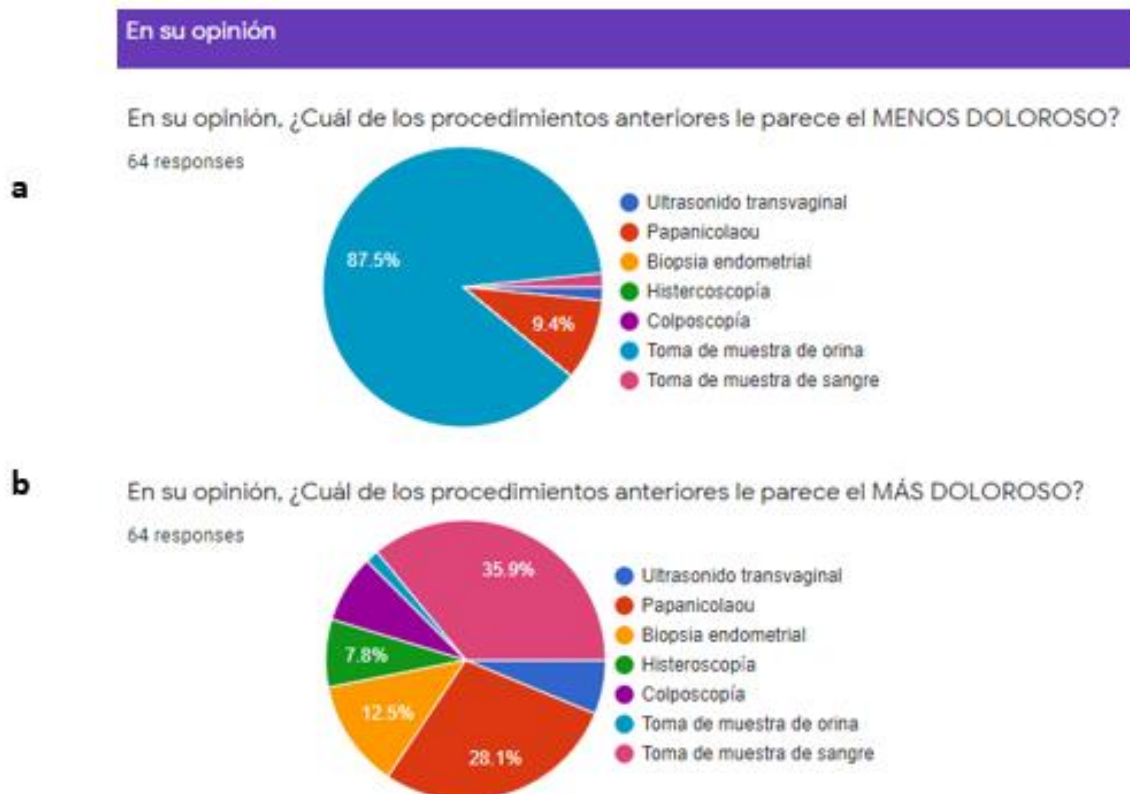


Figura 12. Percepción del procedimiento ginecológico menos doloroso (a) y del más doloroso (b).

Según los resultados de este análisis, la toma de muestra de orina fue catalogada por las encuestadas como la menos dolorosa comparada con los procedimientos anteriores.

7. Discusión

El ADN transrenal (Tr-DNA) está conformado por secuencias cortas de pares de bases de ácidos nucleicos típicamente de menos de 180 pares de bases de longitud, las cuales son excretadas y detectables en orina en pacientes con una variedad de patologías infecciosas y malignas. (<https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/tr-DNA>). El presente trabajo representa un primer esfuerzo en México por evaluar los niveles del Tr-DNA con la intención de verificar su calidad como biomarcador para la detección oportuna del cáncer de ovario y endometrio, siendo la muestra de orina una forma inocua de obtener mayor información clínica acerca de patologías relacionadas con el cáncer ginecológico.

Para comprender mejor los factores de riesgo para este tipo de patologías, se analizaron algunos reportados ya por otros autores (48) entre los que se encuentra la edad, el IMC, paridad, comorbilidades añadidas menopausia. En la población de estudio, la edad promedio fue de 45 años y el Índice de Masa Corporal (IMC) promedio de 32, el cual se ha asociado con obesidad (42). Schmandt *et al* reportaron que pacientes con un IMC ≥ 30 presentan un riesgo relativo (RR) de 2.62 veces mayor de presentar CE; mientras que pacientes con un IMC ≥ 25 presentan un RR de 1.13 veces mayor de presentar CO (43). Datos clínicos que se presentaron en las pacientes con estos diagnósticos, no así en los grupos de patologías benignas donde el rango de edad fue variable desde 23 a 62 años

Respecto al grupo CE la menopausia es una característica frecuente en las pacientes con CE, coincidiendo al 100% con las pacientes participantes en este estudio. Además, la comorbilidad más predominante es la diabetes, con un 45% en el grupo de CE, Friberg *et al* reportaron previamente que pacientes con diabetes presentan un RR mayor de 1.94 de presentar CE, y un RR elevado de 6.39 si presentan diabetes y obesidad conjuntamente (44,45).

Respecto al grupo de CO solo el 60% de las pacientes con CO se encontraban en la menopausia si se compara con el grupo de CE; constatando la relación de éste es un factor de riesgo para CE

En este estudio, en el cual se analizan los niveles del Tr-DNA en pacientes con patologías gineco-oncológicas se propone un primer abordaje diagnóstico y diferencial. Elshimali y colaboradores reportaron que los ácidos nucleicos circulantes separados en un gel de electroforesis tienden a formar un Ladder -escalera- parecido a un barrido, pero los fragmentos de entre 180-1,000 bp suelen asociarse a la apoptosis (proceso normal celular), mientras que los fragmentos de hasta 10,000 bp suelen asociarse a necrosis celular (proceso liderado principalmente por patologías cancerígenas) (46). En nuestro proyecto encontramos que dichos procesos (fragmentación) están asociados cáncer. Sin embargo, tal como se indica en la literatura, los tamaños de Tr-DNA, oscilan principalmente cerca de los 100 bp, por lo cual podemos interpretar que nuestro Tr-DNA previamente aislado se encuentra dentro de los rangos y parámetros establecidos.

Se han realizado estudios en donde se reporta sensibilidad y especificidad del uso de ADN cell free en sangre para diferentes tipos de cáncer como hígado, estómago, páncreas, esófago, colon pulmón y mama. (47,51) Sin embargo, no se ha descrito un punto de corte de Tr- ADN en patología de endometrio u ovario. Los resultados de este estudio brindan información por primera vez a nuestro conocimiento sobre el rango esperado en pacientes con patología ginecológica benigna (cistoadenoma seroso, cistoadenoma mucinoso, endometriode, tumor de Brenner, teratoma, hiperplasia con o sin atipia, atrofia o pólipo endometrial) y maligna (cáncer de ovario y endometrio) para orientar al Ginecoobstetra hacia el diagnóstico, evitando la invasividad en el diagnóstico de patología maligna de ovario y endometrio, lo que permitiría poder emplearla como opción menos invasiva para pacientes con sospecha clínica de dichas patologías. Cabe mencionar que estudios recientes mencionan, que el resultado del análisis de ADN transrenal es

compatible con el resultado de análisis valorados en plasma sanguíneo, por lo que es un método diagnóstico confiable, poco invasivo y seguro. (49)

Las voluntarias a quienes se aplicó la encuesta para evaluar su experiencia al realizarse diferentes procedimientos diagnósticos ginecológicos evidenció que los consideran dolorosos pero necesarios; y el hecho de que hasta un 87% de las pacientes elijan la toma de muestra de orina por sobre todos es debido a que la consideran menos invasiva, más rápida y fácil de recabar, permitiendo así, que sea aceptada para el uso de diagnóstico y pronóstico ante patologías de cáncer ginecológico.

En este estudio se analizó el nivel de Tr-DNA cuantitativamente y dado los resultados que relacionan positivamente un mayor nivel de Tr-DNA en pacientes con CO y CE, en relación a pacientes con enfermedades ginecológicas benignas, así como pacientes sanas, se propone analizar el Tr-DNA de manera cualitativa, es decir, si presenta o no variantes genéticas asociadas a estos cánceres ginecológicos

8. Conclusiones

El nivel del Tr-DNA de pacientes con cáncer de ovario y cáncer de endometrio es significativamente mayor vs el nivel de Tr-DNA de pacientes con patologías ginecológicas benignas y voluntarias sanas.

La mayoría de las pacientes eran obesas. La diabetes predominó en un 45% en el grupo de CE, siendo la comorbilidad de mayor frecuencia. La menopausia se presentó en mayor frecuencia en los grupos de CE y PBE (100%). Únicamente 27% y 33% de los casos en los grupos de CE y PBO fumaban respectivamente. El consumo de alcohol fue referido únicamente en los grupos de CO, PBO y voluntarias sanas presentando este último mayor frecuencia.

El papanicolaou y el USTV son los procedimientos más frecuentemente experimentados en esta cohorte, siendo el primero el que se practicarían el 100% de las encuestadas de ser necesario. Así mismo, describen a la toma de muestra de orina como el procedimiento menos doloroso (87.5%).

Los estadios tempranos predominaron en el grupo de pacientes con CE y los estadios tardíos predominaron en el grupo de pacientes con CO.

El tamaño de los Tr-DNA aislados corresponde a lo reportado en la literatura (100 bp) con lo cual se establece que se aisló y caracterizó de manera exitosa el Tr-DNA

Finalmente, este proyecto representa uno de los primeros trabajos en el análisis de los niveles del Tr-DNA de orina de pacientes con patologías ginecológicas (benignas y malignas) y su comparación con un grupo de voluntarias sanas.

La orina posee la ventaja de ser colectada fácilmente, de una manera no invasiva y por la propia paciente, además, su análisis es factible de realizar a gran escala (como en la práctica clínica).

9. Perspectivas

- En este estudio nosotros analizamos los niveles del Tr-DNA, de una manera cuantitativa
- Se propone a manera de perspectiva, contar con un número de mayor de pacientes y agruparlas por estadio para analizar el Tr-DNA de manera cualitativa y establecer un punto de corte además de manera cualitativa, es decir, si presenta o no variantes genéticas asociadas a cáncer ginecológicos.

10. Bibliografía

1. CDC. ¿Qué es el cáncer ginecológico? | CDC. 2019.
2. Goff B. Symptoms Associated With Ovarian Cancer. Clin Obstet Gynecol. 2012;55(1):36-42.
3. Programa de Cáncer de Ovario del INCan. Oncoguía: Cáncer Epitelial de Ovario. 2013.
4. CDC. Concientización sobre el cáncer ginecológico - Especiales CDC - CDC en Español. 2016.
5. Gallardo D, Montalvo G, Gonzales A, Cantú de Leon D, Isla D, Muñoz D, et al. Oncoguía: Cáncer Epitelial de Ovario. Cancerologia. 2011;6(6):53-60.
6. Menon U, Skates SJ, Lewis S, Rosenthal AN, Rufford B, Sibley K, et al. Prospective study using the risk of ovarian cancer algorithm to screen for ovarian cancer. J Clin Oncol. 2005;23(31):7919-26.
7. Cragun JM. Screening for ovarian cancer. Cancer Control. 2011;18(1):16-21.
8. American Cancer Society. ¿Qué es el cáncer de ovario? 2018.
9. Clinic M. Cáncer de ovario - Síntomas y causas - Mayo Clinic. 2018.
10. Bajo-Arenas J. Fundamentos de Ginecología. Fundamentos de Ginecología. Editorial Medica Panamericana; 2009. 421 p.
11. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin [Internet]. 2018;68(6):394-424. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30207593>
12. Ruvalcaba-Limón E, Cantú-de-León D, León-Rodríguez E, Cortés-Esteban P, Serrano-Olvera A, Morales-Vásquez F, et al. Primer Consenso Mexicano de Cancer de Endometrio. Rev Investig Clin. 2010;62(6):585-605.
13. Gallardo-Rincón D, Espinosa-Romero R, Rosemary Muñoz W, Mendoza-Martínez R,

- del Villar-Álvarez S, Oñate-Ocaña L, et al. Epidemiological overview, advances in diagnosis, prevention, treatment and management of epithelial ovarian cancer in Mexico. *Salud Publica Mex.* 2016;58(2).
14. Labidi-Galy SI, Papp E, Hallberg D, Niknafs N, Adleff V, Noe M, et al. High grade serous ovarian carcinomas originate in the fallopian tube. *Nat Commun.* 2017 Dec 23;8(1):1093.
 15. Gómez ACA, González DM. Cáncer de ovario diagnóstico y tratamiento: Guía de Práctica Clínica Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia. *Comego.* 2011;395–414.
 16. Pavlik EJ, Ueland FR, Miller RW, Ubellacker JM, Desimone CP, Elder J, et al. Frequency and Disposition of Ovarian Abnormalities Followed With Serial Transvaginal Ultrasonography. *Obs Gynecol.* 2013;122:210–7.
 17. Partridge E, Kreimer AR, Greenlee RT, Williams C, Xu J-L, Church TR, et al. Results from four rounds of ovarian cancer screening in a randomized trial. *Obstet Gynecol.* 2009;113(4):775–82.
 18. Li A. New biomarkers for ovarian cancer: OVA1 and ROMA in diagnosis. *Contemp OBGYN.* 2012;
 19. Sturgeon CM, Duffy MJ, Walker G. The National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) guidelines for early detection of ovarian cancer: the pivotal role of the clinical laboratory. *Ann Clin Biochem.* 2011;48(Pt 4):295–9.
 20. Fishman DA, Roberts KB, Chambers JT, Kohorn EI, Schwartz PE, Chambers SK. Radiation therapy as exclusive treatment for medically inoperable patients with stage I and II endometrioid carcinoma with endometrium. *Gynecol Oncol.* 1996;61:189–96.
 21. Hernandez E. ACOG Practice Bulletin number 65: management of endometrial cancer. Vol. 107, *Obstetrics and gynecology.* 2006. p. 952; author reply 952-953.
 22. Coon D, Beriwal S, Heron DE, Kelley JL, Edwards RP, Sukumvanich P, et al. High-Dose-Rate Rotte “Y” Applicator Brachytherapy for Definitive Treatment of Medically Inoperable Endometrial Cancer: 10-Year Results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*

2008;71:779–83.

23. Niazi TM, Souhami L, Portelance L, Bahoric B, Gilbert L, Stanimir G. Long-term results of high-dose-rate brachytherapy in the primary treatment of medically inoperable stage I-II endometrial carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005;63:1108–13.
24. Rolfo C, Castiglia M, Hong D, Alessandro R, Mertens I, Baggerman G, et al. Liquid biopsies in lung cancer: The new ambrosia of researchers. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 2014;1846(2):539–46.
25. Dellinger TH, Monk BJ. Systemic therapy for recurrent endometrial cancer: a review of North American trials. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009;9:905–16.
26. McLarty JL, Yeh C-H. Circulating Cell-Free DNA: The Blood Biopsy in Cancer Management. *MOJ Cell Sci Rep*. 2015;2(2):21–4.
27. Cree IA. Liquid biopsy for cancer patients: Principles and practice. *Pathogenesis*. 2015;2(1–2):1–4.
28. Alix-Panabières C, Pantel K. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA as Liquid Biopsy. *Cancer Discov*. 2016;6(5):479–91.
29. Schwarzenbach H, Hoon DSB, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2011;11(6):426–37. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L51421924>
30. Cheng F, Su L, Qian C. Circulating tumor DNA: a promising biomarker in the liquid biopsy of cancer. *Oncotarget*. 2016;30:48832–41.
31. Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. *Clin Chem*. 2015;61(1):112–23.
32. Siravegna G, Bardelli A. Genotyping cell-free tumor DNA in the blood to detect residual disease and drug resistance. *Genome Biol*. 2014;15(8):449.
33. Kinde I, Bettgowda C, Wang Y, Wu J, Agrawal N, Shih M, et al. NIH Public Access.

2013;5(167).

34. Strasinger SK, Schaub Di Lorenzo M. Analisis de orina y de los liquidos corporales. Medica Panamericana; 2010. 30 p.
35. Botezatu I, Serdyuk O, Potapova G, Shelepov V, Alechina R, Molyaka Y, et al. Genetic analysis of DNA excreted in urine: a new approach for detecting specific genomic DNA sequences from cells dying in an organism. Clin Chem. 2000 Aug;46(8 Pt 1):1078–84.
36. Umansky SR, Tomei LD. Transrenal DNA testing: progress and perspectives. Expert Rev Mol Diagn. 2006;6(2):153–63.
37. Utting M, Werner W, Dahse R, Utting M, Werner W, Dahse R. Microsatellite Analysis of Free Tumor DNA in Urine , Serum , and Plasma of Patients : A Minimally Invasive Method for the Detection of Bladder Cancer. 2002;8(January):35–40.
38. Su Y-H, Wang M, Brenner DE, Ng A, Melkonyan H, Umansky S, et al. Human Urine Contains Small, 150 to 250 Nucleotide-Sized, Soluble DNA Derived from the Circulation and May Be Useful in the Detection of Colorectal Cancer. J Mol Diagnostics. 2004;6(2):101–7.
39. Xia Y, Huang C-C, Dittmar R, Du M, Wang Y, Liu H, et al. Copy number variations in urine cell free DNA as biomarkers in advanced prostate cancer. Oncotarget. 2016;7(24).
40. Fuji T, Barzi A, Sartore-Bianchi A, Cassingena A, Siravegna G, Karp D, et al. Mutation-Enrichment Next-Generation Sequencing for Quantitative Detection of KRAS Mutations in Urine Cell-Free DNA from Patients with Advanced Cancers. Clin Cancer Res. 2017;
41. Red de Apoyo a la Investigacion. Manual de uso del fluorómetro Qubit 3.0 Life Technologies Agosto 2016. CDMX; 2016.
42. CDC. El índice de masa corporal para adultos | Peso Saludable | DNPAO | CDC. 2015.

43. Schmandt RE, Iglesias DA, Co NN, Lu KH. Understanding obesity and endometrial cancer risk: Opportunities for prevention. Vol. 205, American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2011. p. 518–25.
44. Friberg E, Orsini N, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2007 Jun 5;50(7):1365–74.
45. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial cancer. Vol. 366, *The Lancet*. 2005. p. 491–505.
46. Elshimali YI, Khaddour H, Sarkissyan M, Wu Y, Vadgama J V. The clinical Utilization of circulating cell free DNA (CCFDNA) in blood of cancer patients. *Int J Mol Sci*. 2013;14(9):18925–58.
47. Irma G Domínguez-Vigil, Ana K Moreno-Martínez, Julia Y Wang, Michael HA Roehrl, Hugo A Barrera-Saldaña. The dawn of the liquid biopsy in the fight against cancer. *Oncotarget* 2018 9(2) 2912
48. Disaia JP, Creasman TW *Oncologia ginecologica clinica* 9th ed Mexico Elseiver 2018
49. Yuanfang Liao, Yanfang Zhang Variations in Transrenal DNA and Comparison with Plasma DNA as a Diagnostic Marker for Colorectal Cancer. *The international Journal of biological markers* *Int J Biol Markers* 2017; 32(4): e434-e440 <https://doi.org/10.5301/ijbm.5000288>
50. T. Van Den Bosch*, J. Verguts. (2008). Pain experienced during transvaginal ultrasound, saline contrast sonohysterography, hysteroscopy and office sampling: a comparative study. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 31, 346–351.
51. Joshua D. Cohen^{1,2,3,4,5}, View ORCID ProfileLu Li⁶, View ORCID ProfileYuxuan Wang, Christopher Thoburn, Bahman Afsari. (2018). Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science*, 359, 926-930.

11. Anexos

Anexo 1. Encuesta de percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



Encuesta "Percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos"

Se solicita su autorización para participar en la siguiente encuesta, cuyo objetivo es evaluar y comparar la percepción de las mujeres durante procedimientos ginecológicos, la cual consiste en una serie de preguntas relacionadas a los más frecuentes procedimientos ginecológicos. Los beneficios que se esperan de este trabajo consistirán en conocer la percepción del dolor generado por los procedimientos ginecológicos actuales, los cuales podrían ser de utilidad en la toma de decisiones médicas. La participación en este estudio es totalmente voluntaria, si usted no desea participar en el estudio, no habrá ninguna consecuencia negativa para usted. La respuesta es completamente anónima, por lo que no se dispondrá de ningún dato que pueda identificarle. Si tienen alguna pregunta sobre este proyecto de investigación, puede consultar en cualquier momento al Investigador Principal Dr. med. Oscar Vidal Gutiérrez cuyo e-mail es vidal_oscar@hotmail.com. Los investigadores le agradecen su valiosa participación en el presente estudio.

Fecha: ____/____/____

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

Lugar de recolección de datos: _____ Código interno: _____

Fecha de Nacimiento: ____/____/____ Edad: _____ Estado de Nacimiento: _____

Teléfono (opcional): _____ e-mail (opcional): _____

Sexo ☐ Femenino ☐ Masculino

Raza/Etnia ☐ Latina ☐ Blanca ☐ Afroamericana ☐ Asiática ☐ Otra Especificar: _____

Educación ☐ Primaria ☐ Secundaria ☐ Preparatoria ☐ Licenciatura ☐ Maestría ☐ Doctorado

Ocupación ☐ Empleada ☐ Ama de casa ☐ Negocio propio ☐ Jubilada ☐ Invalidez ☐ Otra

Peso _____ kg

Talla _____ m IMC _____ ☐ Bajo peso ☐ Normal ☐ Sobrepeso ☐ Obesidad

Tipo de obesidad ☐ Ginecoide ☐ Androide

¿Tiene hijas? ☐ Sí ☐ No

¿Realiza algún tipo de ejercicio? ☐ Sí ☐ No

¿Cuántos? _____

¿Qué tipo de ejercicio?	Caminata	Correr	Spinning	Yoga	Pesas	Natación	Especifique
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____

Protocolo Titulado: "Evaluación del DNA Transrenal como biomarcador para la detección oportuna del cáncer de ovario y endometrio", Encuesta Percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos. Versión 2, Fechado 17 Enero de 2020, Monterrey, N.L., México, Dr. med. Oscar Vidal Gutiérrez

SERVICIO DE GINECOLOGÍA
 Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, 64460
 Monterrey, N.L., México Apartado Postal 1-4469 Tel. directo (81) 8346 3443
 Celular: (81) 83891111ext. 3157 y 3206, Tel. Fax: 81234538





UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

Marque con una "X" los procedimientos a los cuales se ha sometido					
	Ultrasonido transvaginal	Papanicolaou	Biopsia endometrial	Hieroscopia	Colposcopia
¿Este procedimiento le pareció doloroso?					
Nada doloroso					
Doloroso pero tolerable					
Muy doloroso					
Extremadamente doloroso					
El procedimiento resultó como esperaba					
Menos incómodo de lo esperado					
Como lo esperaba					
Más incómodo de lo esperado					
Comparado con la toma de muestra sanguínea esto le resultó:					
Nada doloroso					
Menos doloroso					
Comparable en términos de incomodidad					
Más doloroso					
Comparado con la toma de orina esto le resultó:					
Nada doloroso					
Menos doloroso					
Comparable en términos de incomodidad					
Más doloroso					
¿Se sometería de nuevo a este procedimiento, de ser necesario?					
Si					
No					
Lo consideraría					

¿Cuál de los procedimientos anteriores (ultrasonido transvaginal, Papanicolaou, biopsia endometrial, hieroscopia, colposcopia, toma de muestra de orina, o toma de muestra sanguínea) le parece el menos doloroso? _____

¿Cuál de los procedimientos anteriores (ultrasonido transvaginal, Papanicolaou, biopsia endometrial, hieroscopia, colposcopia, toma de muestra de orina, o toma de muestra sanguínea) le parece el más doloroso? _____

Protocolo Titulado: "Evaluación del DNA Transrenal como biomarcador para la detección oportuna del cáncer de ovario y endometrio". Encuesta Percepción del dolor durante procedimientos ginecológicos. Versión 2, Fechado 17 Enero de 2020, Monterrey, N.L., México. Dr. med. Oscar Vidal Gutiérrez

SERVICIO DE GINECOLOGÍA

Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, 64460 Monterrey, N.L., México Apartado Postal 1-4489 Tel. directo (81) 8346 3443 Correo electrónico: (81) 83891111ext. 3157 y 3206, Tel. Fax: 81234538



Anexo 2. Carta de aceptación de comité de ética



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

DR. med. OSCAR VIDAL GUTIÉRREZ.
Investigador principal
Departamento de Ginecología y Obstetricia
Presente.-

Estimado Dr. Vidal Gutiérrez:

Les informo que nuestro **Comité de Ética en Investigación** del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González", ha **evaluado y aprobado** el proyecto de investigación titulado: "**Evaluación del DNA transrenal como biomarcador para la detección oportuna del cáncer de ovario y endometrio**", registrado con la clave **GI20-00004** participando además la Dra. Lourdes Garza Rodríguez, Dra. Cinthya Viridiana Colegio Torres y el Est. Luis Enrique Fernández Garza como Co-Investigadores.

De igual forma los siguientes documentos.

- Protocolo de Investigación, versión 2 de fecha 13 de marzo del 2020.
- Formato de Consentimiento Informado, versión 2 de fecha 17 de enero de 2020.

Le informamos que es obligación del Investigador Principal mantenernos informados del avance o terminación de su proyecto.

Sin más por el momento, me despido de ustedes.

Atentamente,
"Alere Flammam Veritatis"
Monterrey N.L., 27 de Abril de 2020



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

DR. med. JOSÉ GERARDO GARZA LEAL
Presidente del Comité de Ética en Investigación

Comité de Ética en Investigación

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, N.L. México
Teléfonos: 81 8329 4050, Ext. 2870 a 2874, Correo Electrónico: investigacionclinica@meduani.com



12. Resumen Autobiografico

Cinthya Viridiana Colegio Torres

Candidata para el grado de especialidad en Ginecologia y Obstetricia

Tesis: Evaluación del DNA transrenal como biomarcador para la detección oportuna del cáncer de ovario y endometrio”

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Biografia

Nacida en Monterrey Nuevo León y residnere de Montemorelos Nuevo León; hija de Bertha Alicia Torres Moreno y Javier Colegio Sánchez

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León con el grado de Médico cirujano y partero en 2014

Experiencia Profesional: Residnete de cuarto año (4-4) de la Especialidad de Ginecologia y Obstetrica en el Hopital Universitario “Dr José Eleuterio Gonzalez” de la Universidad Autónoma de Nuevo

Abstract:

Objective: To evaluate the levels of Tr-DNA as a biomarker for the timely detection of ovarian and endometrial cancer.

Material and methods: A prospective, observational, transversal and descriptive study was conducted at the Department of Gynecology and Obstetrics of the University Hospital "Dr. José E. González" of the UANL from June 2019 to October 2019. In this work two study cohorts were included, 1) Female volunteers answered a survey on pain perception during some gynecological procedures (pap smear, USTV, endometrial biopsy, hysteroscopy, and colposcopy) more frequent compared to the perception of urine sample taking; and 2) Patients with clinical diagnosis of Ovarian Cancer (OC), Endometrial Cancer (EC), Benign Endometrial Pathologies (BEP), Benign Ovarian Pathologies (BOP), as well as healthy volunteers, who after signing the Informed Consent, provided a urine sample (100 ml) using the medium-stream technique. The urinary Tr-DNA was isolated by means of a commercial kit, later it was quantified by fluorometry and characterized in a capillary microelectrophoresis system.

Results: Regarding the independent cohort of volunteers (n=64) the results suggest urine collection as the least painful procedure. Regarding the patient cohort (n=42), urine Tr-DNA was successfully isolated and characterized, corresponding to CO (n=10), EC (n=10), SBP (n=2), BOP (n=6), healthy volunteers (n=14). Tr-DNA levels of cancer patients are higher compared to BOP, SBP, and healthy volunteers; however, only the comparison of the EC group vs. the healthy volunteers group was statistically significant ($P = 0.0391$)

Conclusion: Urine sampling is considered the least invasive procedure compared to current methods for the diagnosis of gynecological cancers, resulting in a promising option as a diagnostic method. Tr-DNA levels of patients with gynecological cancers, either ovarian and/or endometrial, show elevated levels of Tr-DNA compared to those of patients with SBP, PBO, and healthy volunteers.

Keywords: transrenal DNA, biomarker, cell free, gynecological cancer, endometrial cancer, ovarian cancer